

Santé publique France

12 rue du Val d'Osne – 94415 Saint Maurice Cedex

www.santepubliquefrance.fr

Centre National de Référence Herpes Virus
CHU de Limoges-CBRS 2, avenue Martin Luther King 87042
LIMOGES CEDEX
Tél. : 05 55 05 61 60
Site web: <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus.fr>



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Herpes Virus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	CHU de Limoges	Pr Sophie ALAIN
Laboratoire Associé	Hopital Necker-Enfants malades- AP-HP	Dr Marianne LERUEZ-VILLE
Laboratoire Associé	Hopital Pitié Salpêtrière – AP-HP	Dr David BOUTOLLEAU

GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.

Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.

NB : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

Guide de remplissage	2
Résumé analytique	5
Faits marquants	5
Executive summary	6
Highlights	6
1. Missions et organisation du CNR	7
Organigramme	7
Mission et Organisation	9
Démarche Qualité	9
2. Activités d'expertise	11
2.1 Evolution des techniques	11
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	13
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	13
2.4 Collections de matériel biologique	27
2.5 Activités d'expertises	30
2.6 Activités de séquençage	30
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	36
3. Activités de surveillance	37
3.1 Description du réseau de partenaires	37
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	37
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	41
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	66
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	66
4. Alertes	69
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	70
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	70
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	73
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	74
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	75

6.1	Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	75
6.2	Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	80
7.	Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	84
8.	Programme d'activité pour les années suivantes.....	85
1.	Annexe 1 : Missions & organisation du CNR.....	91
1.1	Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	91
1.2	Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	91
1.3	Locaux et équipements.....	92
1.4	Collections de matériel biologique	92
1.5	Démarche qualité du laboratoire	96
2.	Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	98
2.1	Liste des techniques de référence	98
2.2	Liste des techniques recommandées par le CNR.....	105
3.	Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	111
3.1	Permanence du CNR	111
3.2	Autorisations MOT	111
3.3	Autorisations d'exercer la biologie médicale.....	112
3.4	Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo	112
3.5	Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France	112
3.6	Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR.....	112
3.7	Autres remarques à destination du comité des CNR.....	112

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

2023 et 2024 sont deux années de remise à jour des recommandations nationales et internationales autour du CMV, et le CNR prend une part active à ces recommandations.

Le bilan de la base de données nationale sur les infections congénitales à CMV objective une augmentation des centres qui dépistent le CMV pendant la grossesse mais une hétérogénéité de prise en charge persiste sur le territoire. Le CNR Necker a poursuivi ses développements techniques et propose une aide concrète au diagnostic de l'infection congénitale à CMV. La participation active du CNR aux recommandations européennes en 2023 permet de proposer un consensus de prise en charge et de traitement des primo-infections à CMV chez la femme enceinte par valaciclovir. Un nouvel essai thérapeutique avec le letermovir en cas d'infection fœtale est également ouvert. Les efforts conjoints de formation sur l'infection congénitale à CMV (arbres décisionnels remis à jour 2024 sur le site du CNR, MOOC), devraient permettre d'améliorer son diagnostic et sa prise en charge.

L'année 2023 a été marquée par une utilisation plus large du letermovir (qui obtient une AMM 200 jours en prophylaxie de l'infection à CMV en allogreffe de moelle et de rein) et du maribavir dans les suites de son AMM en traitement des infections à CMV réfractaires ou résistantes. Le CNR Limoges a intensifié ses actions de communication sur la prise en charge des infections à CMV et l'évaluation de la réponse immune (accompagnement sur l'utilisation du Quantiféron CMV et l'évaluation des tests NGS). En 2023, la base de données des mutations de résistance sur le site du CNR a été ouverte au réseau du CNR et à l'international et s'est dotée d'un comité scientifique d'experts internationaux. Il est désormais possible d'analyser les génotypes, de produire un rapport de résistance, et de déclarer les nouvelles mutations en temps réel pour permettre au CNR de déclencher une analyse phénotypique par virus recombinant. Le CNR intensifie également l'analyse des facteurs associés à la non-réponse thérapeutique par le développement du séquençage NGS du génome entier dans le cadre d'un projet européen H2021.

Dans le domaine des infections à alpha herpès-virus, le CNR Pitié-Salpêtrière a poursuivi la surveillance des résistances en intégrant les nouvelles molécules (pritelivir et amenavir) utilisées dans le cadre d'accès compassionnel. Concernant la suite de l'étude de la cohorte rétrospective nationale RétroAlpha 14-18 sur les infections neuroméningées graves à HSV/VZ, les analyses transcriptomiques et métatranscriptomiques ont montré des différences de profil de transcriptomique humaine dans les LCS positifs par rapport à celui des LCS négatifs pour des agents infectieux (groupe contrôle) ainsi que des surexpressions de certains gènes viraux d'HSV-1 et d'HSV-2.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

2023 and 2024 are two years in which national and international recommendations on CMV will be updated, and the CNR is playing an active role in these recommendations.

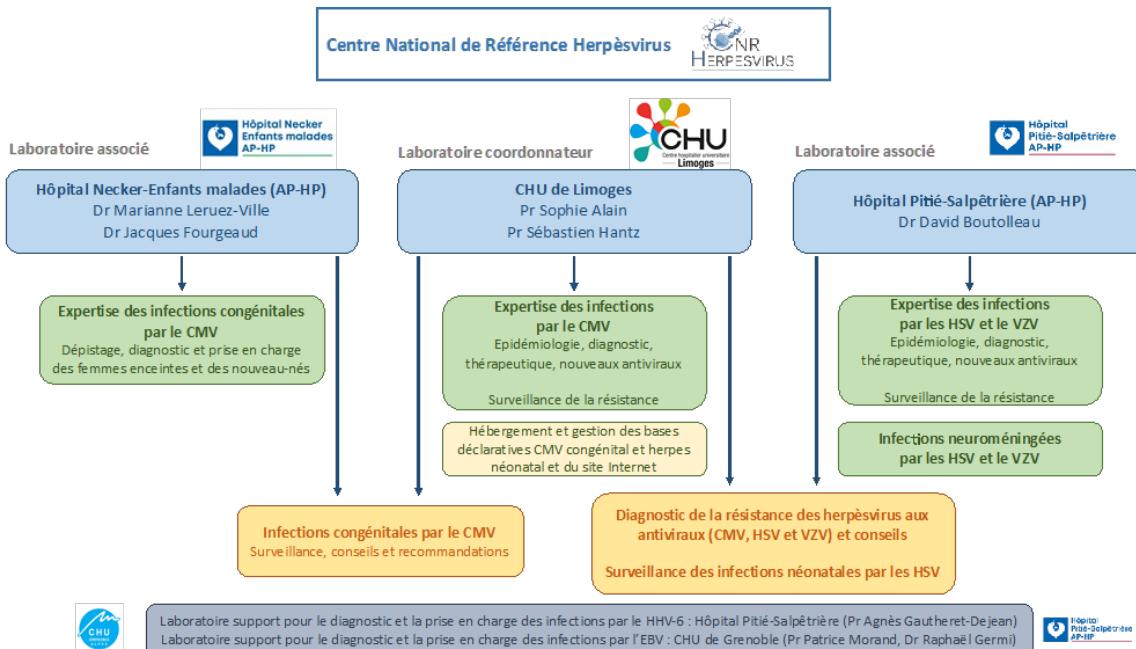
The results of the national database on congenital CMV infections show an increase in the number of centres screening for CMV during pregnancy, but there are still disparities in the way in which care is provided across the country. The CNR Necker has continued to develop its techniques, offering practical assistance in the diagnosis of congenital CMV infection. The CNR's active participation in the European recommendations for 2023 has led to a consensus on the management and treatment of primary CMV infection in pregnant women using valaciclovir. A new therapeutic trial using letermovir in cases of foetal infection is also underway. Joint training efforts on congenital CMV infection (decision trees updated to 2024 on the CNR website, MOOC) should help to improve its diagnosis and management.

The year 2023 was marked by wider use of letermovir (which obtained a 200-day marketing authorisation for CMV prophylaxis in marrow and kidney allografts), and of maribavir following its marketing authorisation for the treatment of refractory or resistant CMV infections. The CNR Limoges has stepped up its communication campaigns on the management of CMV infections and the evaluation of the immune response (support on the use of the CMV Quantiferon and the evaluation of NGS tests). In 2023, the database of resistance mutations on the CNR website was opened up to the CNR network and the international community, and a scientific committee of international experts was set up. It is now possible to analyse genotypes, produce a resistance report, and declare new mutations in real time to enable the CNR to trigger phenotypic analysis using recombinant viruses. The CNR is also stepping up its analysis of factors associated with therapeutic non-response by developing whole-genome NGS sequencing as part of a European H2021 project.

In the field of alpha herpesvirus infections, the CNR Pitié-Salpêtrière continued to monitor resistance, integrating the new molecules (pritelivir and amenamevir) used for compassionate access. As regards the continuation of the RetroAlpha 14-18 national retrospective cohort study of severe neuromeningeal HSV/VZ infections, transcriptomic and metatranscriptomic analyses showed differences in the human transcriptomic profile of LCS-positive compared with LCS-negative for infectious agents (control group), as well as overexpressions of certain HSV-1 and HSV-2 viral genes.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme



Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Médecins biologistes :

Pr Sophie ALAIN : Directeur du CNR Herpesvirus (0,45 ETP pour le CNR ; financement : hôpital et université)

Pr Sébastien HANTZ : Directeur adjoint (0,2 ETP pour le CNR ; financement : hôpital et université)

Médecin Gynécologue Obstétricien :

Dr Perrine COSTE-MAZEAU : Hopital Mère Enfant, CHU de Limoges (financement Hôpital)

Technicien :

1 ETP Technicien CDD financé sur la MIG CNR Maladies transmissibles : **Fatoumata CONDET**. Réception, enregistrement, analyses (génotypes de résistance CMV, HSV et VZV en Sanger, tests Quantiféron, avidités CMV, PCRs TTV, PCR CMV demandées par les laboratoires extérieurs au CNR, PCRs HSV sur échantillons extérieurs, recherche des HHV6 intégrés)

Ingénieurs :

- 1 ETP CDI financé sur les crédits MIG CNR : **Melissa GOMES-MAYERAS**

Recherches de résistance par NGS, tests sur carton de Guthrie. Réalisation des évaluations de techniques. Développe les techniques NGS.

- 1 ETP CDI Ingénieur bioinformaticien : **Valentin TILLOY** depuis juillet 2016

En charge du développement des pipe-lines et de l'analyse des données de séquence et de la mise à disposition des séquences sur la GenBank. Mise en ligne et entretien de la base de données de résistance sur le nouveau site internet.

- 1,3 ETP Ingénieur de recherche clinique :

Françoise GARNIER (0,5 ETP CDI) financée par la MIG CNR depuis 2017. Surveillance des bases de données cliniques sur la résistance, enquêtes du CNR en greffe de cellules souches, et transplantation d'organe, cohorte NaViRe en cours d'inclusion.

- Elodie RIBOT** (0,8 ETP CDI) Surveillance des infections congénitales à CMV avec le laboratoire associé Necker, et des infections néonatales à HSV, gestion des bases de données nationales. Responsable du site internet pour les trois laboratoires.
- Pour assurer l'analyse des résultats issus des bases de données et des enquêtes concourant à la surveillance pour l'ensemble du CNR, nous avons obtenu 0,2 ETP de biostatisticien. La personne est recrutée (Deborah ANDOUARD) et commence ses travaux sur les bases de données résistance.

Personnel concourant aux activités mais non financé par les crédits CNR.

Les techniciens de sérologie participent au dépistage de l'infection congénitale à CMV mis en place sous l'égide du CNR au CHU de Limoges depuis janvier 2020 par l'aide à la réalisation des tests d'avidité extérieurs en plus de ceux réalisés dans le cadre du dépistage systématique pratiqué au CHU de Limoges et accompagné par le laboratoire CNR.

Technicien 0,5 ETP CDI financé par l'INSERM et partagé avec le CNR Toxoplasmose : en 2023, Nicolas PLAUT en charge des antivirogrammes sur isolats et sur virus recombinants transfère cette technique au laboratoire CNR pour l'expertise des mutations de résistance. Il conserve et de l'entretien des modèles ex vivo et in vivo en souris SCID pour évaluer les nouveaux antiviraux.

Doctorants : Financés par l'Université de Limoges et le projet Européen HORUS

2022-2025 **Claire Gourin** : « étude des protéines accessoires du complexe terminase et recherche de nouvelles cibles antivirales »

2023-2025 **Maxime ROCHER** : ophtalmologiste « physiopathologie de la réactivation du CMV dans l'œil. Modèle d'infection et activité des antiviraux »

Laboratoire CNR associé Necker :

Pas de nouveauté à Necker.

Personnel dévolu au laboratoire CNR associé Necker (laboratoire de microbiologie Clinique) en 2023 :

Médecins biologistes : 0,8 ETP

Dr Marianne LERUEZ-VILLE : Cheffe de service- Praticien Hospitalier temps plein –a consacré 30% de son temps au CNR et est entièrement rémunérée par l'hôpital.

Dr Jacques FOURGEAUD : Assistant Hospitalo-Universitaire a consacré 25% de son temps au CNR et est entièrement rémunéré par l'hôpital et l'université.

Dr Nicolas VEYRENCHÉ : Praticien contractuel qui a 20% de son salaire rémunéré dans le cadre du CNR.

Techniciens : 1,5 ETP

Mme Tiffany GUILLEMINOT occupe le poste entièrement rémunéré par le budget du CNR. Mme GUILLEMINOT consacre 100% de son temps au CNR : réalisation des PCR CMV sur Guthrie, salive et liquide amniotique, des sérologies CMV, des expertises de trousses sérologiques CMV ou de biologie moléculaire CMV, récupération et saisies des données de déclaration de cas, biothèque du CNR.

Techniciennes du laboratoire de Virologie qui participent au fonctionnement du CNR en réalisant des techniques en lien avec l'activité du CNR (sérologie, PCR CMV) : 0.3 ETP.

Secrétaire du laboratoire : gestion des appels et des envois de résultats : 0.20 ETP.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Evolutions survenues en termes d'organigramme pour le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

- Départ du Dr Sonia BURREL (nomination PU-PH au laboratoire de Virologie du CHU de Bordeaux)
- Départ d'Olivier BOMME (technicien)
- Arrivée de José FERNANDEZ (ingénieur d'études)

Personnel du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière en 2023 :

Dr David BOUTOLLEAU (MCU-PH, service de virologie) : responsable du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière (0,5 ETP ; financement : hôpital et université)

José FERNANDEZ : ingénieur d'études du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière (1,0 ETP ; financement : subvention allouée par SpF)

Techniciens AP-HP du laboratoire de virologie (2,0 ETP ; financement : hôpital)

Mission et Organisation

L'organisation du CNR a été reconduite de façon similaire à celle de l'année précédente avec trois laboratoires référents en France pour leurs compétences dans le domaine des herpesvirus.

Les missions du CNR Herpesvirus sont orientées en priorité sur le Cytomégalovirus (CMV) et les alpha herpesvirus (HSV et VZV). Le CNR comporte trois laboratoires reconnus au niveau national et international pour leurs compétences dans ce domaine : un laboratoire CNR, au CHU de Limoges, laboratoire fondateur du CNR cytomégalovirus en 2006, en pointe sur l'épidémiologie des infections à CMV et leur prise en charge notamment chez les patients immunodéprimés et leader sur la résistance aux antiviraux, et deux laboratoires associés. Le laboratoire de virologie du CHU Necker, à Paris, qui fait partie du CNR depuis sa fondation, leader dans la prise en charge des infections congénitales à CMV assume les missions plus spécifiques à l'infection congénitale à CMV. Le laboratoire du CHU Pitié Salpêtrière, Paris, assure les missions concernant HSV et VZV avec la mise en place d'un réseau de surveillance des résistances des HSV et VZV aux antiviraux et une surveillance des infections neuroméningées à HSV et VZV. Ces deux bases de données viennent compléter les surveillances historiquement mises en place par le laboratoire CNR concernant les infections congénitales à CMV en collaboration avec le laboratoire associé Necker, et les résistances aux anti-CMV depuis 2006, ainsi que la surveillance les infections néonatales à Herpes simplex depuis 2012, pour répondre à l'évolution des missions du CNR en 2012. Les missions de conseil concernant les infections graves aux autres herpesvirus (Varicelle, HHV6, EBV) sont assurées par les laboratoires du CNR avec l'aide du laboratoire référent national pour EBV au CHU de Grenoble.

La mission de coordination est assurée par le laboratoire de virologie du CHU de Limoges.

Pour des raisons d'organisation pratique territoriale et de charge de travail, les activités diagnostiques et de conseil resteront partagées entre les différents laboratoires. La liste des techniques disponibles dans les différents laboratoires est disponible sur le site du CNR et au chapitre « capacités techniques du laboratoire » du présent document.

Démarche Qualité

Les laboratoires du CNR Herpesvirus participent à différents programmes d'évaluation externe de la qualité pour les analyses entrant dans le champ d'activité du CNR :

- Sérologies herpèsvirus : contrôles du CTCB et de Biologie Prospective (France)
- Détection/quantification des génomes des herpèsvirus : contrôles du QCMD (International)
- Détection/quantification du génome du CMV sur carton de Guthrie : contrôles du QCMD (International)
- Résistance du CMV et des HSV aux antiviraux par test génotypique : contrôles du QCMD (International)

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Le Laboratoire de Biologie du CHU de Limoges est accrédité COFRAC à la norme 15189 depuis 2014. (N°8-2607 Rév 13). La mesure de la charge virale CMV par PCR quantitative sur sang total, la sérologie VIH sur Architect et la mesure de la charge virale VIH sur automate M2000 ont été accréditées en 2016. La portée a été étendue en 2019 à toutes les PCR herpès virus. En 2018 ont été accréditées les analyses quantitatives de charge virale du VIH, VHB, VHC et la détection des chlamydia et gonocoques par les techniques de TMA sur Panther Hologic.

En 2021, les sérologies virales sur Liaison XL (et transfert de méthode de l'Architect sur Alinity) et le QuantiféronTM CMV ont été ajoutées à la portée d'accréditation du VIH. Par ailleurs, la plate-forme de séquençage Sanger et NGS du CHU de Limoges, à laquelle participe le CNR, est également accréditée Cofrac.

Les dossiers d'accréditation pour les PCR de séquence ont été initiés au second semestre 2022. Un audit COFRAC de validation des nouvelles techniques a été réalisé du 19 au 22 septembre 2023. Il a permis d'accréditer 2 nouvelles portées : PCR de séquence type Sanger et PCR maison en temps réel (charge virale COVID-19 IP2-IP4)

La sécurité informatique est assurée par l'utilisation du réseau sécurisé du CHU, avec une sauvegarde centralisée de toutes les données sur deux serveurs distants, et la mise à disposition d'un serveur de grand volume (NAS) pour sécuriser les données de génomique (NGS) de la plateforme diagnostique de séquençage. Toutes les analyses effectuées par le laboratoire CNR sont enregistrées et gérées dans le logiciel de laboratoire GLIMS du Laboratoire de Biologie du CHU.

Les collections du CNR (responsables Sophie Alain et Elodie Ribot) sont progressivement intégrées Centre de Ressources Biologiques du CHU de Limoges CRBioLim certifié NF S96-900 (N°140787/1258F) pour pouvoir être cédées ou utilisées à des fins d'évaluation ou de collaboration. Les échantillons en attente d'intégration sont conservés dans la collection biologique du CNR au laboratoire (N°: DC 2008_604) sécurisées avec alarme au sein du Laboratoire et gérées par le logiciel Glims et le logiciel sécurisé TDBioBank.

Laboratoire CNR associé Necker :

Le laboratoire de virologie de Necker est accrédité COFRAC sur tous les marqueurs sérologiques (dont la sérologie CMV : IgG, IgM et avidité des IgG) et les marqueurs de biologie moléculaire en portée A (PCR CMV, PCR HIV, PCR virus des hépatites, PCR multiplex).

Le laboratoire a fait deux démarches récentes d'accréditation :

-ouverture de la ligne MG06 en mars 2021 pour les techniques en NGS, un audit interne a eu lieu en mai 2022, l'audit COFRAC de validation de nouvelle ligne qui était prévue en novembre 2023 n'a pas eu lieu faute d'auditeurs COFRAC disponibles, cette visite est maintenant programmée pour septembre 2024.

-ouverture en mars 2021 de la ligne BM-VB-01 en portée B en biologie moléculaire ce qui nous a permis d'accréditer à la suite de l'audit COFRAC de novembre 2023 la technique de PCR CMV sur carton de Guthrie.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière est engagé dans une démarche qualité.

De nombreux examens virologiques sont accrédités

- Sérologies des herpèsvirus (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV et EBV), HIV, HAV, HBV, HDV, HCV, rubéole
- Charges virales HIV, HBV et HCV plasmatiques
- Le séquençage pour le diagnostic génotypique de la résistance du HIV aux antirétroviraux.

2. Activités d'expertise

Les CNR de Limoges et de la Pitié-Salpêtrière assurent une activité d'expertise et de conseil pour la prise en charge des infections à CMV, HSV et VZV chez les patients immunodéprimés. Il assure une activité d'analyse des mutations de résistance aux antiviraux et de conseil thérapeutique pour la gestion des situations complexes et l'utilisation des nouvelles molécules. L'activité est assurée 5 jours sur 7 avec un rendu des résultats entre 48 et 72h (jours ouvrés).

Les CNR de Necker et de Limoges assurent conjointement l'activité d'expertise et de conseil pour l'infection congénitale à CMV. Ces 2 centres ont mis en place le dépistage systématique de l'infection à CMV en cours de grossesse en lien avec leur CPDPN respectif. L'année 2023 a été riche de péripéties concernant l'infection congénitale à CMV. En France, le dépistage de la sérologie au 1er trimestre de la grossesse a été voté dans la loi de financement de la sécurité sociale fin 2023. Malgré un avis défavorable du HCSP de janvier 2024, nous attendons la suite que le gouvernement va donner à ce vote parlementaire. En parallèle, certains pays européens se sont prononcés pour un dépistage universel de la primo-infection maternelle pendant la grossesse (Grèce, Italie et certains Landers allemands).

Cet atermoiement administratif contraste avec une diffusion chez les personnels de santé et dans la population des femmes concernées des connaissances sur les enjeux de la primo-infection chez la femme enceinte et de la possibilité d'un traitement par le valaciclovir pour prévenir la transmission materno-fœtale. Ceci a pour conséquence directe une augmentation des sollicitations de la part de nos collègues biologistes, obstétriciens ou sage-femmes pour une aide à l'interprétation des sérologies pendant la grossesse. Le rôle du CNR est primordial pour apporter une aide quotidienne aux collègues confrontés à ces cas mais de façon plus large pour aider à définir des recommandations de prise en charge.

Dans ce contexte, le laboratoire CNR associé Necker a été moteur dans la coordination d'un groupe d'experts européens pour l'élaboration, la rédaction et la publication de recommandations pour la prise en charge pré et post natale de l'infection congénitale à CMV (*Lancet Public Regional Health*, sous presse). Ces recommandations seront accessibles sur le site du CNR et pourront servir de base pour élaborer des recommandations nationales. En parallèle de cet effort, le laboratoire CNR associé Necker a développé en collaboration avec une start-up un modèle expert pour l'interprétation des sérologies CMV pendant la grossesse. Ce modèle est en cours de validation multicentrique pour le rendre accessible aux biologistes et aux autres professionnels de santé concernés. La base de données nationale des infections congénitales gérée par le laboratoire coordonnateur de Limoges sert également de support pour identifier les carences d'organisation des soins et pour adapter les recommandations.

2.1 Evolution des techniques

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Les techniques utilisées et présentées dans le précédent rapport 2022 sont toujours en vigueur en 2023.

Devant le nombre croissant de demandes de détermination de la synthèse intrathécale (SIT) dans le contexte du diagnostic d'encéphalite herpétique ou varicelleuse avec biologie moléculaire négative, nous avons décidé de mettre en routine le dosage de la SIT avec les trousse HSV-G et VZV-G (DiaSorin®) sur l'analyseur LiaisonXL, permettant ainsi également de répondre aux recommandations de la SPILF concernant le VZV. L'évaluation des performances de cet analyseur pour ce dosage avait été présentée dans le précédent rapport.

Pour la surveillance des patients greffés, nous avons mis en place la mesure de la charge virale TTV (TorqueTenoVirus) avec la PCR R-gene (bioMérieux). L'extraction est réalisée sur E-Mag (bioMérieux) suivi d'une distribution automatisée sur l'automate E-Stream (bioMérieux) et une amplification sur thermocycleur CFX. Les résultats sont envoyés directement dans le SIL. Cette PCR avait été développée dans le cadre d'une thèse avec contrat CIFRE entre bioMérieux et notre laboratoire (Kulifaj et al. J Clin Virol. 2018).

Développement avec le laboratoire de pharmacologie du CHU de Limoges du dosage du maribavir afin de pouvoir accompagner au mieux la mise en œuvre de ces nouveaux traitements chez les patients.

Laboratoire CNR associé Necker :

1. Dans un premier temps nous avions décidé de développer une technique de séquençage NGS d'amplicons de PCR ciblée sur les gènes de résistance aux antiviraux.

Il s'agit d'une technique de génotypage grâce à un panel de sondes « à façon » (basé sur la souche de CMV Towne FJ616285.1) et à la technologie Ampliseq® d'Illumina qui permet le séquençage des gènes *UL 27 – UL 51 – UL 52 - UL 54 - UL 56 - UL 89 - UL 97 – UL 104* sur notre appareil MiniSeq (Illumina). Ce séquençage permet de réaliser le génotypage de résistance du CMV aux antiviraux (ganciclovir, foscarnet, maribavir et letermovir). Nous avons évalué les performances de cette technique sur un panel de 19 échantillons de sang totaux avec des charges virales CMV comprises entre 2,5 et 6,2 log cp/ml. La couverture horizontale moyenne était respectivement de 62% et 97% pour les prélèvements de sang avec des charges virales CMV < 3 log cp/ml et >5 log cp/ml. La couverture horizontale moyenne des gènes séquencés était seulement de 87% pour les charges virales comprises entre 4 et 5 log cp/ml. Pour une utilisation de la technique en routine et une interprétation fiable des mutations de résistance notre objectif était d'obtenir une couverture horizontale des gènes d'intérêts >95% pour les charges virales >3,5 log cp/ml. Nous n'avons donc pas retenu cette technique pour le génotypage de résistance du CMV aux antiviraux.

Tableau 1. Couverture horizontale des gènes impliqués dans la résistance du CMV aux antiviraux avec la technique de séquençage d'amplicons de PCR Ampliseq (Illumina)

Charge virale dans le sang total (log copies/ml)	Nombre de prélèvements séquencés (n=)	Couverture horizontale moyenne des gènes <i>UL 27 – UL 51 – UL 52 - UL 54 - UL 56 - UL 89 - UL 97 – UL 104</i> (%)
< 3	3	62
3 - 4	7	71
4 - 5	5	87
> 5	4	97

2. Nous avons réorienté notre développement vers un séquençage NGS du génome entier.

Cette technologie est complexe à développer sur un génome de la taille de celui du CMV mais est la plus fiable pour obtenir une couverture optimale du génome et étudier de façon fine et exhaustive la génétique moléculaire virale. Cette analyse se déroule en 6 étapes : 1) Extraction des acides nucléiques 2) Préparation des librairies réalisée avec le protocole SureSelectXT Target Enrichment (Agilent Technologies), qui permet d'enrichir la préparation en séquence de CMV grâce à l'utilisation d'une banque de 33809 sondes de capture de 120-mer couvrant le génome entier du CMV. 3) Séquençage NGS sur l'appareil MiniSeq (Illumina) permettant de décrire le génome du CMV avec une couverture verticale de plus de 1000x, rendant possible l'identification des variants minoritaires (<1%). 4) alignement des « reads » ou « lectures » produites par le NGS sur les génomes de références et étapes de contrôle de la qualité des séquences (couverture horizontale et verticale par rapport à un génome de référence) réalisés avec le logiciel Geneious Prime. 5) Identification des infections mixtes par plusieurs souches de CMV avec l'outil HaROLD (Haplotype Reconstruction Of Longitudinal Deep sequencing data) installé sur la plateforme galaxy de l'AP-HP (<https://galaxy-bioinfo.aphp.fr/>) 6) Enfin identification des variants minoritaires réalisée par une approche statistique avec le logiciel R.

Le Dr Jacques Fourgeaud, adjoint du CNR est actuellement mis en délégation pour une mission d'étude de 6 mois (janvier à juin 2024) au sein du groupe du Pr Judith Breuer (Division of Infection and Immunity – University College of London Great Ormond Street Institute of Child Health). Cette mission est l'occasion d'acquérir une formation à cette technique d'amplification du génome entier, notamment, le Dr Fourgeaud va réaliser et interpréter génomes entiers dans 20 prélèvements collectés chez des patients atteints d'infection congénitale notamment dans le cadre d'infections maternelles non primaires. A son retour, le Dr Fourgeaud pourra transférer cette technologie au laboratoire de virologie de Necker et aussi au laboratoire de virologie de la Pitié-Salpêtrière qui n'a pas encore développé cette technique dans le cadre du CNR associé dont est responsable le Dr Boulolleau.

Cette technique va nous permettre de réaliser les séquençages des gènes de résistance aux antiviraux mais aussi d'étudier finement l'épidémiologie moléculaire virale.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

En 2023, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière s'est équipé de l'automate FilmArray TORCH pour le diagnostic des méningoencéphalites d'origine infectieuses, notamment dues aux herpèsvirus (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV et HHV-6).

Le CNR possède désormais différents outils moléculaires pour l'étude de l'épidémiologie du VZV :

- Identification du caractère sauvage ou vaccinal des souches de VZV par une technique de PCR différentielle en temps réel (ciblant l'ORF62), complétée par l'identification de SNP spécifiques (séquençage Sanger) dans les ORF38 (position 69349) et ORF62 (positions 105705, 106262, et 108111)
- Identification des différents clades (1 à 6 et 9) des souches de VZV et participer ainsi à de études épidémiologiques. Cette méthode est fondée sur l'identification des SNP spécifiques (séquençage Sanger) dans les ORF21 (positions 33725), ORF22 (positions 37902, 38055, 38081 et 38177) et ORF50 (position 87841)

Nous avons développé une nouvelle méthode de séquençage par méthode Sanger pour le gène *UL52* du HSV-2 dans la cadre de la recherche de résistance aux nouveaux antiviraux pritélivir et aménamévir (inhibiteurs d'hélicase-primase)

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

1. Comparaison de l'ELITECH BeGenius® et du couple extraction Samag / PCR R-gene pour le diagnostic de l'infection à CMV congénitale sur DBS

La PCR sur spot de sang séché (DBS) est un outil indispensable pour le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale par le cytomégavirus (CMV). L'ensemble du processus d'extraction est long et complexe et en raison de l'impossibilité d'automatiser l'ensemble du processus, nous avions précédemment adapté l'étape d'extraction sur l'extracteur SaMag-12 (Sacace), couplé à la PCR CMV R-gene (bioMérieux). Dans le présent travail, nous avons encore amélioré la méthode et testé un processus alternatif d'extraction et d'amplification, en utilisant le BeGenius® ELITECH.

Méthodes : La première étape a consisté à améliorer la phase préanalytique en évitant de diviser le spot DBS et en utilisant l'échantillon entier pour une lyse manuelle avant l'extraction avec l'extracteur Sacace et la PCR CMV R-gene ou avec le processus d'extraction-amplification BeGenius® d'ELITECH. Une gamme de l'étoile universel CMV de l'OMS allant de 5,10E5 à 5,10E1 UI/ml a été testée en trois exemplaires. Pour l'étude clinique, 44 échantillons de sang total de 6 patients transplantés (avec réPLICATION du CMV ou de l'EBV) ont été testés soit en utilisant l'échantillon primaire, soit en déposant 50µL de celui-ci sur du papier buvard, en utilisant les mêmes méthodes que celles décrites ci-dessus.

Résultats : Les performances étaient équivalentes entre le DBS divisé et non divisé avec des résultats de quantification de l'albumine similaires pour tous les spots, quelle que soit la méthode. La quantification du CMV était également similaire (la différence moyenne de CV entre le DBS divisé et non divisé était de 0,03 +/- 0,04 pour Elitech et de -0,02 +/- 0,16 pour Sacace en utilisant le panel de l'OMS). La charge virale CMV a été détectée pour la première fois à 2,98 et 2,44 log copies/mL à partir de l'échantillon OMS de 5,10E2 copies/mL par Sacace et Elitech, respectivement. En utilisant le DBS non fractionné, la différence de charge virale CMV était de 0,89, 0,55, 0,27 et 0,09 log IU/ml pour 5,10E2, 5,10E3, 5,10E4 et 5,10E5 IU/mL, respectivement, alors que 5,10E1 copies/mL n'a pas été détecté. Les triplicats ne présentaient pas un écart-type supérieur à 0,2 pour Sacace et à 0,35 pour Elitech. Les résultats de la quantification de l'albumine sur des échantillons de sang de patients transplantés étaient significativement plus élevés avec l'extraction Elitech qu'avec l'extraction Sacace (moyenne 6,22 log copies/mL +/- 0,38 contre 5,94 log copies/mL +/- 0,37 ; p= 0,0016). La différence moyenne de quantification du CMV sur les DBS spikés était de 0,67 +/- 1,26 en faveur d'Elitech. Pour les deux tests, certains échantillons spikés sur DBS avec des charges virales positives sur sang total n'ont pas été détectés. La différence moyenne des charges virales CMV

entre sang total et DBS était de 0,37 log +/-0,75 avec Elitech contre 1,22 +/- 1,5 avec Sacace. Les charges virales inférieures à 3 log copies/ml sur sang total étaient plus fréquemment non détectées pour les deux tests.

Conclusion : L'extraction des DBS est une technique qui nécessite une pré-lyse manuelle. Les extractions entièrement automatisées utilisées pour la détection d'autres virus tels que le VHC ou le VIH ne sont pas satisfaisantes pour la détection du CMV. Nous avons démontré précédemment que la dernière étape peut être réalisée de manière automatisée afin d'éviter l'utilisation de colonnes. Dans cette étude, nous avons validé la non-nécessité du fractionnement des spots et l'utilisation du système automatisé BeGenius® Elitech pour la détection du CMV à partir de DBS, qui a montré de meilleures performances que la PCR Sacace/CMV R-gene (bioMérieux). Dans l'ensemble, la traçabilité et l'automatisation étaient plus élevées avec le système BeGenius®.

Comparison of the ELITECH Be genius and the Samag extraction/Rgene PCR for cCMV diagnosis on DBS

Alain S, Mayeras M, Ribot E, Hantz S
National Reference Center for Herpesviruses, Limoges Univ. Hospital France

Introduction

DBS (Dried Blood Spot) PCR is an indispensable tool for retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. The whole extraction process is long and complex and due to the impossibility of automating the whole process, we had previously adapted the extraction step on the SaMag-12 extractor (Sacace), coupled with the CMV R-gene PCR (bioMérieux).

Objectives

In the present work, we further improved the method and tested an alternative extraction and amplification process, using ELITECH Be genius.

Methods

Material:
44 whole blood (WB) of 6 transplanted patients with CMV or EBV replication (collected from CRBiolim, the biobank of Limoges University Hospital)
5 WHO Universal standard from 5.10^1 to 5.10^5 IU/ml

Automate SaMag-12 system (Sacace):
✓ bench-top extractor
✓ 12 samples in parallel
✓ kit SaMag Blood DNA Extraction kit
✓ principle: magnetic beads

ELITECH Be genius:
✓ self-standing instrument integrating all required hardware, reagents and software components to perform nucleic acid sample preparation and realtime PCR operations
from 1 to 24 samples in 12 parallel tracks
✓ principle of extraction: magnetic beads
✓ Extraction and PCR can be configured separately or alone

PCR P-gene (bioMérieux)
CFX96 system (Bio-Rad)
test sample : 10 µL

PCR Albumin (home-made)
CFX96 system (Bio-Rad)
test sample : 10 µL

Results

✓ **Comparison of performance with split or unsplit DBS:**
Performances were equivalent between the split and unsplit DBS with similar albumin quantification results for all spots.
CMV quantification was also similar (mean difference of VL between the split and unsplit DBS was 0.03 +/- 0.04 for Elitech and -0.02 +/- 0.16 for Sacace using the WHO panel).

WHO Universal standard	Extraction /PCR CMV ELITECH		WHO Universal standard	Extraction SaMag /PCR CMV R-gene	
	Split	Unsplit		Split	Unsplit
5.10^1 IU/mL	0	0	5.10^1 IU/mL	0	0
5.10^2 IU/mL	2.09	2.00	5.10^2 IU/mL	2.97	0.18
5.10^3 IU/mL	3.49	3.41	5.10^3 IU/mL	4.00	0.09
5.10^4 IU/mL	4.63	4.59	5.10^4 IU/mL	4.63	0.26
5.10^5 IU/mL	5.62	5.63	5.10^5 IU/mL	5.63	-0.14

✓ **Comparison of both assays' performance for the quantification of the WHO CMV universal standard on DBS:**
The triplicates did not show a SD higher than 0.2 for Sacace and 0.35 for Elitech.

✓ **Comparison of the extraction performance of both assays:**
Albumin PCR was performed on all DNA extracts from the 44 whole blood samples

	Extraction ELITECH		Extraction SaMag	
	PCR albumin mean quantification	SD	ELITECH	SaMag
PCR albumin mean quantification	$6.22 \log_{10}$ copies/mL	0.38	$5.94 \log_{10}$ copies/mL	0.37
Difference	0.270			
95% CI	0.1054 to 0.4351			
Significance level	P = 0.0016			

Albumin quantification results on spiked WB from transplant patients were significantly higher with Elitech than Sacace extraction

✓ **Comparison of both assays performance for CMV quantification on DBS vs whole blood (WB):**
DNA extraction / CMV PCR was performed on the 44 whole blood samples after spotting on the DBS. For both assays, some sample spiked on DBS with positive viral loads on WB were not detected, mainly those below 3 log

	All viral loads		Viral loads > 3log	
	ELITECH	SaMag/R-gene	ELITECH	SaMag/R-gene
Average difference between DBS and WB VLs	0.37	1.22	0.25	1.61
SD	0.75	1.5	0.60	1.59
Significance level	P = 0.0012		P < 0.0001	

✓ **Comparison of performance of both assays for CMV quantification on DBS:**
After spotting the 44 whole blood samples on the DBS, the mean difference in CMV quantification was slightly higher but significant for ELITECH than for SaMag/R-gene.

	ELITECH		SaMag/R-gene		Delta
	Mean of CMV quantification	SD	ELITECH	SaMag/R-gene	
Mean of CMV quantification	1.86	1.19	0.67		
SD	1.45	1.56	1.26		
Significance level			P = 0.0399		

Conclusion

DBS extraction is a technique that requires manual pre-lysis. Fully automated extractions used for the detection of other viruses such as HCV or HIV are not satisfactory for the detection of CMV. We previously demonstrated that the last step can be carried out on automates to avoid the use of columns. In this study, we validated the non-necessity of spot splitting and the use of the Be Genius Elitech automated system for CMV detection from DBS, which showed better performance than the Sacace/CMV R-gene PCR (bioMérieux). Overall, traceability and automation were higher with the Be Genius system.

Bibliography: Leruez-Ville M, Vauloup-Fellous C, Couderc S, Parot S, Castel C, Avetand-Penot V, Guilleminot T, Grangeot-Keros L, Ville Y, Grabor S, Magny JF. Clin Infect Dis. 2011 Mar 1;52(S):S75-81

Acknowledgments : ELITECH for supplying the automate Be Genius, the DNA extraction and CMV PCR kits

2. Comparaison de l'ELITECH BeGenius® pour le diagnostic de l'infection à CMV sur sang total en comparaison aux trousse R-gene CMV bioMérieux après extraction E-Mag

Matériel : Gamme WHO CMV et échantillons de biothèque CNR de sang total positifs en CMV+/-EBV+/- correspondant à des épisodes d'infection avec réPLICATION virale détectable chez le patient : CMV : 20, EBV : 7

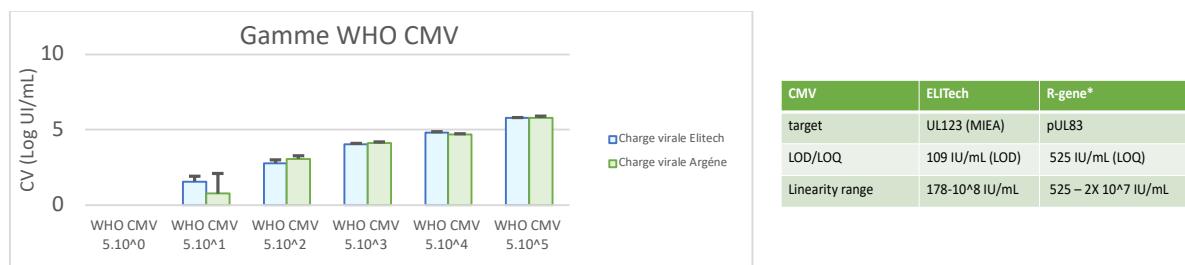
Méthodes :

- En parallèle à partir d'un même échantillon : Extraction E-mag + PCR CMV, BKV, EBV, HHV6 R-gene® (bioMérieux) CFX96 system (Bio-Rad) (Extraction : 200µL sang total et prise d'essai 20µL) / PCR sur automate Begenius Elitech avec Trousse Elite MGB® CMV, BKV, EBV, HHV6 (Extraction : 200µL sang total, prise d'essai 10µL).
- Pour le standard international WHO CMV : Comparaison des deux méthodes et comparaison des résultats obtenus à partir de l'extraction BeGenius avec les deux PCRs Elite MGB CMV ou CMV-Rgene® pour identifier la part liée à la PCR.

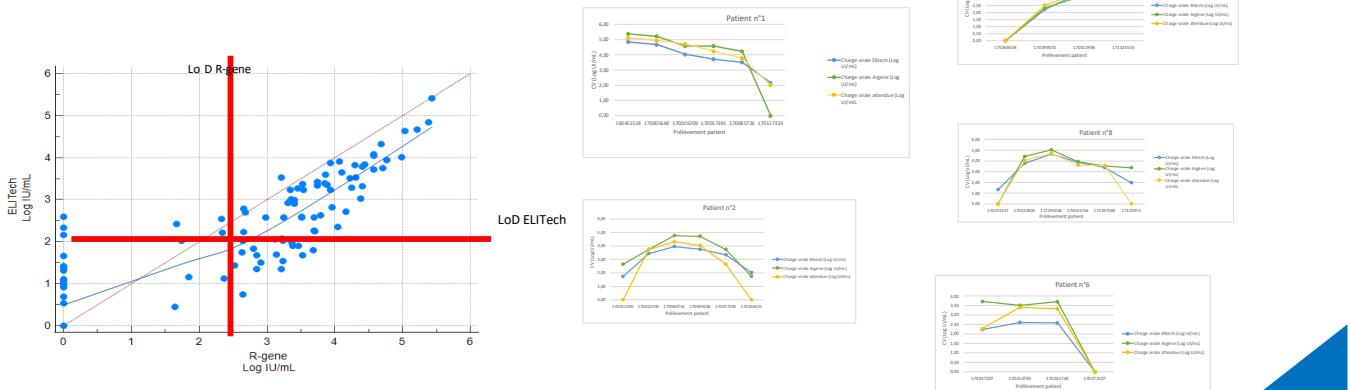
Résultats :

CMV : Standard International WHO CMV : Pas de différence significative entre les deux techniques, pas de différence entre les deux PCRs à partir d'une même extraction sur BeGenius donc pas de différence de quantification entre les deux PCRs.

Echantillons de sang total : Pour la charge virale CMV, les échantillons sont parfaitement corrélés en unités internationale à partir de la limite de linéarité des PCRs. $R=0.865, 95\%CI 0.808 \text{ to } 0.906, p<0.0001$. Spearman 0,89, $p<0,001$. Le test de Bland Altman identifie une différence de quantification de -0,63 en faveur de R-gene CMV (95% CI -0.749 to -0.504 $p<0.0001$). Le facteur de conversion pour R-gene en UI/mL utilisé a été celui du CNR (calculé localement sur la moyenne géométrique des points de gamme), qui est de 2 au lieu du facteur préconisé par R-gene qui est de 1,5 ce qui peut modifier la différence de quantification.



Echantillons cliniques CMV :

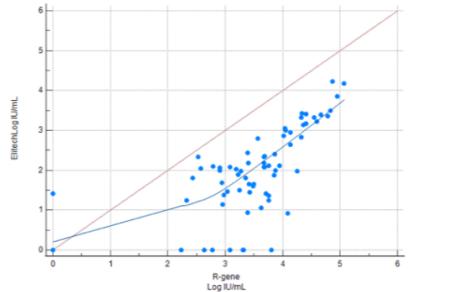


EBV :

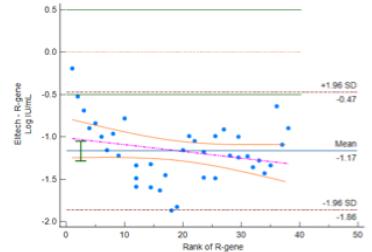
7 patients suivis, 70 échantillons de sang total ; Facteur de conversion UI/ml des fabricants : 2,9 pour Elitech, 1,9 pour R-gene®

Sur les échantillons cliniques : corrélation un peu moins bonne : R 0,6713 (95%CI 0,5180 to 0,7828; p<0,0001)

Déférence de quantification de -1,17 log en faveur de R-gene (95%CI -1,28 à -1,05 ; p<0,0001)



EBV	ELITech	R-gene
target	EBNA-1	BXLF1
LOD	36 copies/mL/104 UI/mL	182 copies/mL/345 UI/mL
Linearity range	36-344828 copies/mL	500-5000000 copies/mL



Cinétiques des infections respectées :



Conclusion : Le CNR recommande la méthode Elitech sur BeGenius pour la mesure de la charge virale CMV sur sang total au même titre que la méthode bioMérieux R-gene avec extraction Emag en utilisant les facteurs de conversion des fabricants. La charge virale EBV est sous quantifiée de 1 log par la méthode Elitech sur BeGenius avec les coefficients utilisés.

Laboratoire CNR associé Necker :

1. Évaluation du test d'avidité des IgG CMV Abbott

Nous avons continué notre expertise sur les trousseuses sérologiques IgG, IgM et avidité Abbott dans la suite de ce qui avait été présenté dans le rapport d'activité 2022.

La sensibilité du test d'avidité Abbott pour identifier une primo-infection de moins de 4 mois a été étudiée à partir de 67 sérums prélevés chez 53 femmes dont la date de primo-infection avait pu être calculée avec certitude (séroconversion entre 2 échantillons prélevés à moins de 4 semaines d'écart ou présence d'IgM isolées suivie d'une séroconversion). Parmi ces 68 sérums, 52 avaient aussi été testés en Vidas (42 femmes) et 52 en Liaison (44 femmes). La Table 1 montre que la sensibilité pour identifier une femme enceinte ayant eu une primo-infection de moins de 4 mois était de 100% avec le Vidas et le Liaison et de 96% avec le test Abbott. La Table 2 montre les détails des résultats pour les 2 sérums mal classés avec le test Abbott.

Table 1 : Comparaison des avidités obtenus avec les 3 tests dans des sérum de femmes enceintes ayant une primo-infection datée avec précision

Délai / PI < 120 jours, 54 femmes	Abbott	Vidas	Liaison
N° de femmes diagnostiquées en PI récente	51/53 Sens= 96%	42/42 Sens=100%	44/44 Sens=100%
N° sérum avidité faible	60/67 (89%)	47/52 (90%)	41/52 (79%)
N° sérum avidité intermédiaire	5/67 (7%)	5/52 (10%)	11/52 (21%)
N° sérum avec avidité forte	12/67 (4%)	0	0

Table 2 : Détails des sérologies dans les sérum mal classés par le test d'avidité Abbott

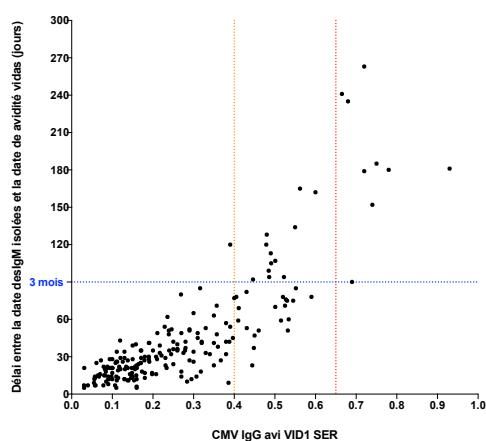
Jours après la PI	IgG Liaison	IgM Liaison	Avidité Vidas	Avidité Liaison	Avidité Abbott	Infection fœtale
52	53	51	19%	0,203	81%	OUI
55	107	15	60%	0,136	71%	NC

Nous souhaitons compléter ces données afin de publier ces résultats. En effet, alerter la communauté sur la sensibilité imparfaite du test Abbott nous paraît important.

2. Développement d'un système expert pour l'interprétation des sérologies CMV

Au cours de l'année 2023, nous avons continué le développement de notre système expert d'interprétation et de datation des primo-infections à CMV chez les femmes enceintes. Nous avons introduit la possibilité de rentrer des résultats sérologiques obtenus avec les trousseuses les plus utilisées en France (5 fabricants pour les IgG et les IgM, 3 fabricants pour l'avidité des IgG). Nous avons aussi enrichi le corpus des conduites à tenir en fonction des différentes combinaisons de résultats. Ce système expert prend en compte l'algorithme de prise en charge des sérologies CMV (ANNEXE I) et les indications de traitement tels que définis dans les guidelines européennes proposées par des experts et récemment publiées.

La datation précise de la primo-infection n'est possible qu'à partir de l'avidité des IgG obtenue avec la technique IgG Avidity II Vidas®. En effet, parmi les tests automatisés d'avidité des IgG CMV disponibles, ce test est le meilleur pour évaluer la maturation progressive des IgG en fonction du temps écoulé depuis la primo-infection. Cette datation est basée sur une fonction logarithmique extrapolée des résultats de 209 sérum provenant de 80 femmes enceintes avec une primo-infection datée de façon précise (séroconversion ou IgM isolées) (Figure ci-dessous).



Quelques exemples de résultats obtenus par ce modèle expert sont donnés ci-dessous.

Première étape : calcul de l'âge gestationnel au prélèvement

CMV Detection Tool

Outil pour prédire si le CMV a été contracté et durant quelle période, en fonction des résultats sérologiques de la patiente.

- Version V3.5 -

Âge de la patiente 30,00	- +	Année de naissance du dernier enfant 2020	- +
<input type="checkbox"/> 🚩 Patiente nullipare			
Date de début de grossesse ou des dernières règles			
Date de début de grossesse			
Date de début de grossesse 2023/12/06			
Date du prélèvement			
2024/02/08			
Prélèvement fait à 11 semaine(s) d'aménorrhée et 1 jour(s).			

Deuxième étape : entrer les résultats des IgG et des IgM ; il est possible de rentrer les résultats de cinq fabricants différents (Abbott, Vidas, Diasorin, Beckman, Roche). Les valeurs seuils de chaque test sont rentrés dans le modèle.

Exemple 1, ci-dessous, des résultats en Abbott avec des IgM positives et des IgG faiblement positives inférieures à 2 fois le seuil de la technique. Un commentaire donne la conduite à tenir.

Quelles techniques sérologiques pour les IgG ?

Technique	IgG Alinity
Valeur des IgG Alinity	14,00

Quelles techniques sérologiques pour les IgM ?

Technique
IgM Alinity
Valeur des IgM Alinity
5,00

Quelles méthodes pour les PCR ?

Technique	Non faite	
<input type="button" value="Lancer la prédiction"/>		

Présence d'anticorps IgM anti-CMV et d'anticorps IgG anti-CMV à un taux faible. PCR CMV non faite. Profil sérologique compatible avec une primo-infection très récente (moins de 1 mois) ou témoignant de la présence d'IgM non spécifiques. Une PCR CMV est souhaitable dès que possible pour confirmer ou infirmer la primo-infection sans délai. L'avidité des IgG anti-CMV dans cette situation n'est pas recommandée car le taux d'IgG anti-CMV est trop faible. Une sérologie de contrôle dans 7 à 10 jours est indispensable pour confirmer ou infirmer la primo-infection à CMV.

Exemple 2 : des résultats en Roche avec des IgG et des IgM positives et une avidité faible en Abbott.

IgG Roche

Valeur des IgG Roche

100,00



- +

Quelles techniques sérologiques pour les IgM ?

Technique

IgM Roche

Valeur des IgM Roche

5,00



- +

Quelles méthodes pour les PCR ?

Technique

Non faite



Quelles méthodes pour l'Avidité ?

Technique

Avidité IgG Alinity

Avidité Alinity des IgG

0,25



- +

Lancer la prédiction

Avidité des IgG anti-CMV faible à 11 semaines d'aménorrhée compatible avec une primo-infection au premier trimestre de la grossesse ou en période périconceptionnelle. Le risque de transmission au foetus est estimée à 35% mais un traitement anti-viral par valaciclovir 8g/jour (4 prises) est possible en prévention de la transmission materno-foetale. Un suivi échographique dans un CPDPN est recommandé. Une amniocentèse pourra être proposée à partir de 18 semaines d'aménorrhée. Un dépistage de l'infection congénital à la naissance par PCR salivaire et/ou urinaire est recommandé.

Exemple 3 : IgG et IgM positives en Liaison Diasorin et avidité Vidas faible

80,00

- +

Quelles techniques sérologiques pour les IgM ?

Technique

IgM Liaison

▼

Valeur des IgM Liaison

?

90,00

- +

Quelles méthodes pour les PCR ?

Technique

Non faite

▼

Quelles méthodes pour l'Avidité ?

Technique

Avidité IgG Vidas

▼

⌚ Avidité Vidas des IgG

?

0,15

- +

Lancer la prédiction

Attention, le résultat de l'avidité vidas n'est interprétable que si la valeur des IgG anti-CMV Vidas est supérieure à 8 UA/ml.

Présence d'anticorps IgG anti-CMV. Présence d'IgM anti-CMV. Avidité des IgG anti-CMV faible à 11 semaines d'aménorrhée. Résultat en faveur d'une primo-infection au premier trimestre de la grossesse entre 6 et 9 semaines d'aménorrhée. Le risque de transmission au foetus est estimé à 35% mais un traitement anti-viral par valaciclovir 8g/jour (4 prises) est possible en prévention de la transmission materno-foetale. Un suivi échographique dans un CPDPN est recommandé. Une amniocentèse pourra être proposée à partir de 18 semaines d'aménorrhée. Un dépistage de l'infection congénital à la naissance par PCR salivaire et/ou urinaire est recommandé.

En 2024, nous allons valider de façon prospective l'outil sur 3 sites (Laboratoires de virologie de Necker, Paul Brousse et de Limoges). Les résultats obtenus par le modèle seront comparés avec ceux rendus par le biologiste de façon classique sans l'aide du modèle. Cette comparaison sera faite pendant 6 mois à un an avec comme objectif la comparaison d'au moins 500 dossiers. Une demande d'autorisation est en cours auprès du CERAP Paris centre.

Cet outil est une collaboration entre les biologistes de Necker (Dr Fourgeaud et Dr Leruez-Ville) et la start-up Louise (Atlal Boudir et Anaïs Grimal) qui fait partie de la FEMtech et propose des solutions logicielles dans le domaine de la santé de la femme. Le développement de l'outil a couté 6500 euros de travail informatique facturé par Louise. Cet outil a été présenté dans plusieurs congrès (ECCI Athènes, octobre 2022 ; 3th Congrès on Congenital cytomegalovirus, Naples, novembre 2023) et a suscité un grand intérêt parmi les virologues et les cliniciens. Notre souhait est de pouvoir à terme mettre l'outil à disposition au niveau du site du CNR. Les enjeux médico-légaux d'une telle démarche sont en cours d'exploration.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Dans le cadre de l'appel d'offres 2023 organisé par l'AGEPS pour les méthodes de diagnostic moléculaire des infections virales par PCR en temps réel, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a évalué différentes trousse pour la quantification des génomes des herpès-virus en les comparant aux techniques en place au sein du laboratoire :

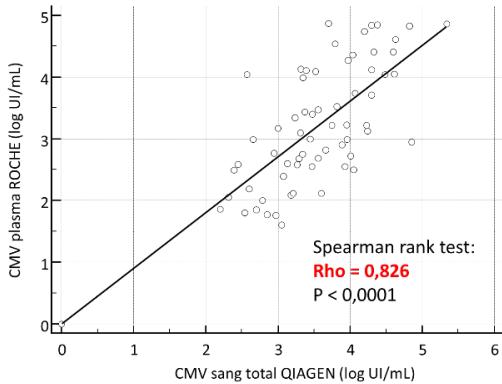
- Trousse Cobas CMV (Roche Diagnostics)
- Trousses CMV-R-GENE® et EBV R-GENE® (bioMérieux)
- Trousses *quanti CMV_{qs}*, *quanti EBV_{qs}*, *quanti HSV1/2_{qs}* et *quanti VZV_{qs}* (Clonit)

Evaluation de la trousse Cobas® CMV (Roche Diagnostics)

La trousse Cobas® CMV (Roche Diagnostics) a été comparée à la trousse artus® CMV RGQ (Qiagen) pour la détection et la quantification du génome du CMV dans 90 prélèvements de sang.

	artus® CMV RGQ (Qiagen)	Cobas® CMV (Roche Diagnostics)
Prélèvements	Sang total	Plasma
Circuit des prélevements	Extraction : QIAAsymphony® SP Mise en plaque : QIAAsymphony® AS PCR : RotorGene Q®	Extraction + mise en plaque + PCR : cobas® 6800
Unité	UI/mL	UI/mL
LoD	Sang total : 123 UI/mL	Plasma : 34,5 UI/mL

La concordance était de 96,7% entre les 2 techniques. Les résultats des 3 échantillons discordants étaient les suivants : négatif (Qiagen) / limite (Roche) (n=1) ; limite (Qiagen) / négatif (Roche) (n=2). Les 2 techniques étaient bien corrélées ($\text{Rho} = 0,83$) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,29 log).



Corrélation entre les charges virales CMV

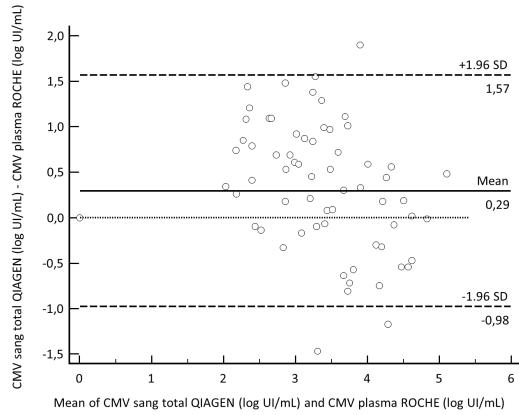


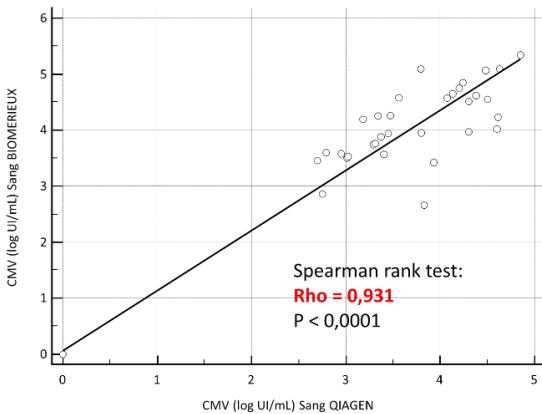
Diagramme de Bland-Altman

Evaluation de la trousse CMV R-GENE® (bioMérieux)

La trousse CMV R-GENE® (BioMérieux) a été comparée à la trousse artus® CMV RGQ (Qiagen) pour la détection et la quantification du génome du CMV dans 48 prélevements de sang total et 10 échantillons du contrôle externe de la qualité QCMD pour le CMV.

	artus® CMV RGQ (Qiagen)	CMV R-GENE® (BioMérieux)
Prélèvements	Sang total / échantillons QCMD	Sang total / échantillons QCMD
Circuit des prélevements	Extraction : QIAAsympnhy SP Mise en plaque : QIAAsympnhy AS PCR : RotorGene Q®	Extraction : EMAG® Mise en plaque : ESTREAM® PCR : LC480® (Roche Diagnostics)
Unité	UI/mL	UI/mL
LoD	Sang total : 123 UI/mL	Sang total : 455 UI/mL

La concordance était de 93,1% entre les 2 techniques. Les résultats des 4 échantillons discordants étaient les suivants : négatif (Qiagen) / positif faible <3 log (bioMérieux) (n=1) ; positif faible <3 log (Qiagen) / négatif (bioMérieux) (n=3). Les 2 techniques étaient bien corrélées ($Rho = 0,93$) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,22 log).



Corrélation entre les charges virales CMV

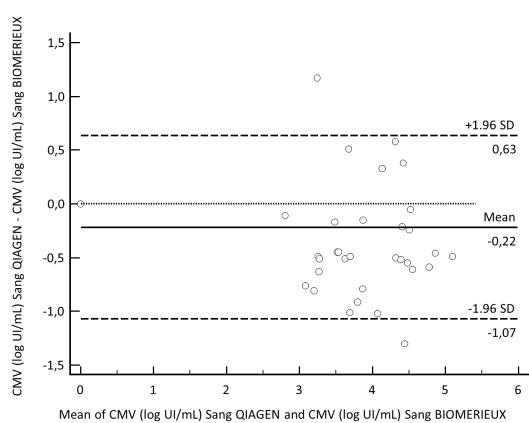


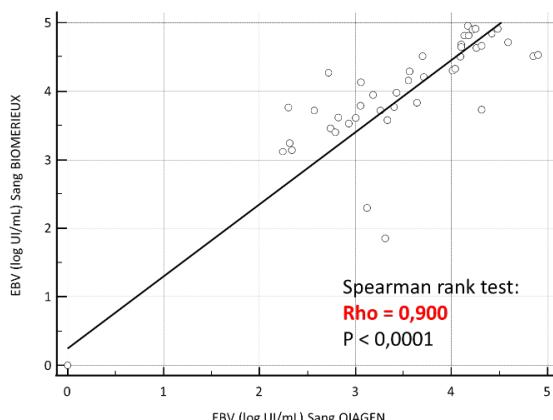
Diagramme de Bland-Altman

Evaluation de la trousse EBV R-GENE® (bioMérieux)

La trousse EBV R-GENE® (bioMérieux) a été comparée à la trousse artus® EBV RGQ (Qiagen) pour la détection et la quantification du génome de l'EBV dans 48 prélèvements de sang total et 10 échantillons du contrôle externe de la qualité QCMD pour l'EBV.

	artus® EBV RGQ (Qiagen)	EBV R-GENE® (bioMérieux)
Prélèvements	Sang total / échantillons QCMD	Sang total / échantillons QCMD
Circuit des prélevements	Extraction : QIAAsympnhy SP Mise en plaque : QIAAsympnhy AS PCR : RotorGene Q®	Extraction : EMAG® Mise en plaque : ESTREAM® PCR : LC480® (Roche Diagnostics)
Unité	UI/mL	UI/mL
LoD	Sang total : 40 UI/mL	Sang total : 364 UI/mL

La concordance était de 91,4% entre les 2 techniques. Les résultats des 5 échantillons discordants étaient les suivants : négatif (Qiagen) / positif faible <3 log (bioMérieux) (n=2) ; positif faible <3 log (Qiagen) / négatif (bioMérieux) (n=3). Les 2 techniques étaient bien corrélées ($\text{Rho} = 0,90$) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,39 log).



Corrélation entre les charges virales EBV

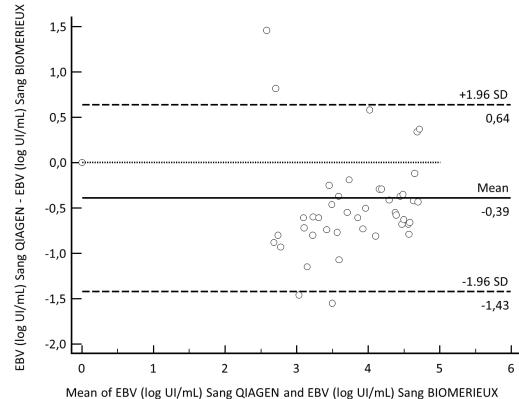


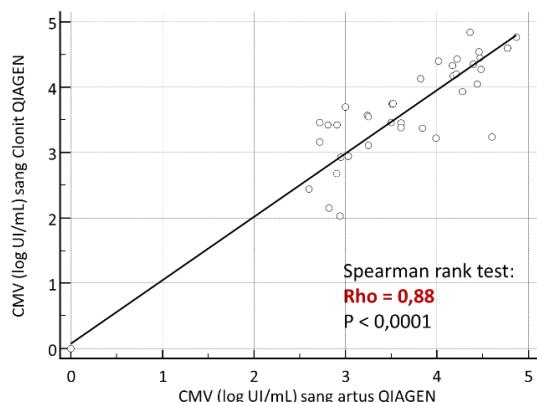
Diagramme de Bland-Altman

Evaluation de la trousse *quanti CMV_{qs}* (Clonit)

La trousse *quanti CMV_{qs}* (Clonit) a été comparée à la trousse artus® CMV RGQ (Qiagen) pour la détection et la quantification du génome du CMV dans 48 prélèvements de sang total.

	artus® CMV RGQ (Qiagen)	<i>quanti CMV_{qs}</i> (Clonit)
Prélèvements	Sang total	Plasma
Circuit des prélevements	Extraction : QIAasympathy® SP Mise en plaque : QIAasympathy® AS PCR : RotorGene Q®	Extraction : QIAasympathy® SP Mise en plaque : QIAasympathy® AS PCR : RotorGene Q®
Unité	UI/mL	UI/mL
LoD	Sang total : 123 UI/mL	Sang total : 48 UI/mL

La concordance était de 97,9% entre les 2 techniques. Les résultats de l'unique échantillon discordant étaient les suivants : positif faible <3 log (Qiagen) / négatif (Clonit). Les 2 techniques étaient bien corrélées ($\text{Rho} = 0,88$) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,02 log).



Corrélation entre les charges virales CMV

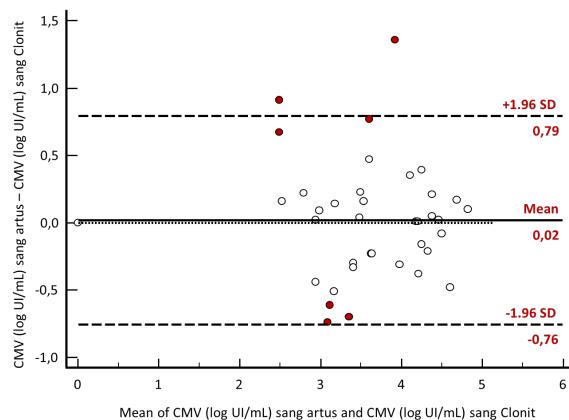


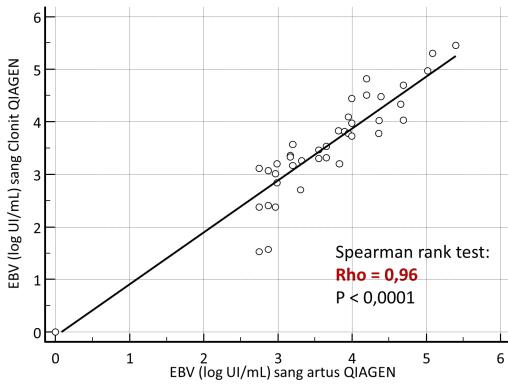
Diagramme de Bland-Altman

Evaluation de la trousse *quanti EBV_{qs}* (Clonit)

La trousse *quanti EBV_{qs}* (Clonit) a été comparée à la trousse artus® EBV RGQ (Qiagen) pour la détection et la quantification du génome de l'EBV dans 48 prélèvements de sang total.

	artus® EBV RGQ (Qiagen)	<i>quanti EBV_{qs}</i> (Clonit)
Prélèvements	Sang total	Plasma
Circuit des prélevements	Extraction : QIAasympathy® SP Mise en plaque : QIAasympathy® AS PCR : RotorGene Q®	Extraction : QIAasympathy® SP Mise en plaque : QIAasympathy® AS PCR : RotorGene Q®
Unité	UI/mL	UI/mL
LoD	Sang total : 40 UI/mL	Sang total : 7 UI/mL

La concordance était de 97,9% entre les 2 techniques. Les résultats de l'unique échantillon discordant étaient les suivants : négatif (Qiagen) / positif faible <2 log (Clonit). Les 2 techniques étaient bien corrélées ($\text{Rho} = 0,96$) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,12 log).



Corrélation entre les charges virales EBV

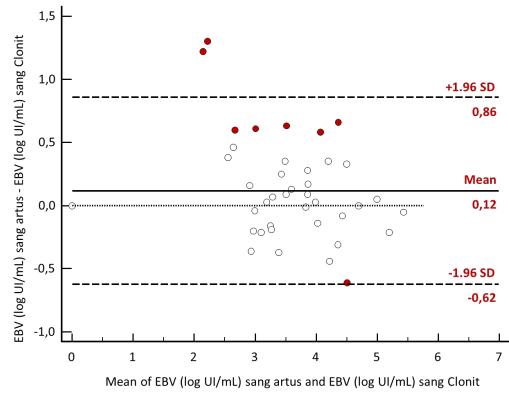


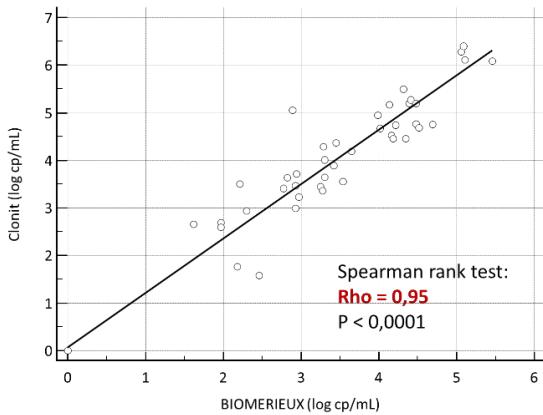
Diagramme de Bland-Altman

Evaluation des trousseuses *quanti HSV1/2_{qs}* et *quanti VZV_{qs}* (Clonit)

Les trousseuses *quanti HSV1/2_{qs}* et *quanti VZV_{qs}* (Clonit) ont été comparées à la trousse HSV1&2 VZV R-GENE® (BioMérieux) pour la détection et la quantification des génomes des HSV-1, HSV-2 et VZV dans 45 prélèvements (sang total, LCS, MTV) spikés avec différentes quantités de souches ATCC et 17 échantillons des contrôles externes de la qualité QCMD pour les HSV et le VZV.

	HSV1&2 VZV R-GENE® (BioMérieux)	<i>quanti HSV1/2_{qs}</i> et <i>quanti VZV_{qs}</i> (Clonit)
Prélèvements	Sang total, LCS, MTV	Sang total, LCS, MTV
Circuit des prélevements	Extraction : QIAAsymphony SP® / EMAG® Mise en plaque : ESTREAM® PCR : LC480® (Roche Diagnostics)	Extraction : QIAAsymphony® SP Mise en plaque : QIAAsymphony® AS PCR : RotorGene Q®
Unité	copies/mL	copies/mL
LoD (HSV-1/HSV-2/VZV)	Sang total : 500 / 100 / 500 copies/mL LCS : 250 / 100 / 300 copies/mL MTV : 1000 copies/mL	Sang total, LCS, MTV : 504 / 711 / 1300 copies/mL

La concordance était de 90,3% entre les 2 techniques. Les résultats des 6 échantillons discordants étaient les suivants : négatif (Clonit) / positif faible <3 log (BioMérieux). Les 2 techniques étaient bien corrélées (Rho = 0,95) et la différence moyenne entre les charges virales étaient inférieure à 0,5 log (0,45 log). Toutefois, cette différence moyenne était variable en fonction des virus : 0,31 log pour le HSV-1, 0,92 log pour le HSV-2 et 0,56 log pour le VZV. L'analyse des LCS avec les trousseuses Clonit devra être effectué avec prudence du fait de leur petit manque de sensibilité.



Corrélation entre les charges virales HSV-1, HSV-2 et VZV

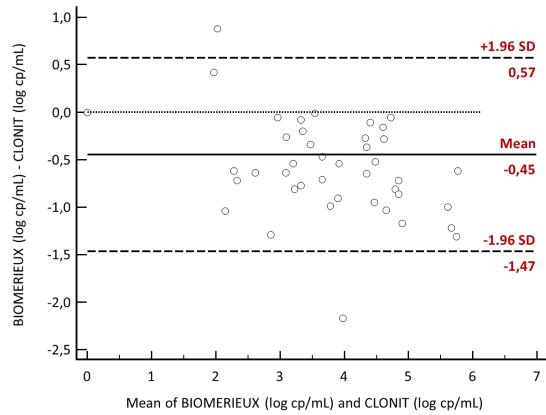


Diagramme de Bland-Altman

Etude de la commutabilité du CMV : intérêt de l'utilisation d'un standard externe pour l'uniformisation inter-centres des résultats de la quantification de la charge virale CMV dans le plasma

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a participé à cette étude organisée par les laboratoires BioRad et incluant 6 laboratoires de virologie en France. Chaque laboratoire a reçu 68 échantillons de plasma (60 positifs et 8 négatifs pour le CMV) qu'il a passé dans sa technique de routine de quantification du CMV. Le panel incluait également 5 standards externes Exact Diagnostics (EDX) de chez BioRad afin de pouvoir recalculer dans chaque centre les charges virales CMV obtenues initialement par la technique de routine. Les résultats montrent que l'utilisation de ces standards externes permet de tendre vers une uniformisation des valeurs des charges virales CMV (UI/mL) obtenues dans les différents centres, sans toutefois obtenir des valeurs réellement similaires. Au vu de ces résultats, il reste recommandé de toujours suivre les charges virales CMV d'un patient dans le même laboratoire et avec la même technique de PCR. Les résultats de ce travail ont été présentés lors du congrès ECSV 2023 (Milan)

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Transfert de la technique de dosage de SIT VZV et HSV sur Liaison XL vers le laboratoire de virologie de Bordeaux (Pr Sonia Burrel).

Transfert de la méthode Sanger de génotype de résistance aux antiviraux à l'équipe du Pr B. Niesters, Groningen, Pays Bas.

Accompagnement du laboratoire Référent de Grenoble pour le développement du pipeline Minlon pour le génotypage de résistance et co-développement des pipelines d'analyse en NGS.

Développement d'une base de données commune et d'un outil de génotypage (HSA) pour l'analyse des résistances du CMV aux antiviraux pour diffusion à l'ensemble du réseau ; adaptation prévue en 2024 pour l'HSV en collaboration avec E. Frobert (Lyon) et le CNR de la Pitié Salpêtrière.

Laboratoire CNR associé Necker :

RAS

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Transfert de la technique de séquençage (méthode Sanger) du gène UL56 du CMV dans le cadre de la recherche de résistance au létermovir au Dr Charlotte PRONIER et au Pr Vincent THIBAULT (CHU de Rennes)

Transfert de la technique de séquençage (méthode Sanger) du gène UL52 du HSV-2 dans le cadre de la recherche de résistance au pritélivir et à l'aménamévir au Dr Emilie FROBERT (CHU de Lyon).

2.4 Collections de matériel biologique

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Les collections du CNR sont progressivement intégrées au Centre de Ressources Biologiques du CHU de Limoges CRBioLim certifié NF S96-900 (N°140787/1258F) pour pouvoir être cédées ou utilisées à des fins d'évaluation ou de collaboration. Les autres échantillons sont conservés dans la collection biologique du CNR au laboratoire (N°: DC 2008_604). Les échantillons cliniques et souches issues de l'activité du laboratoire sont progressivement intégrées aux collections du CNR puis au CRBioLim. La mise à disposition se fait via le CRBiolim par création d'une sous collection et cession (Responsable de collection S Alain et gestionnaire E Ribot).

Le laboratoire CNR est le seul laboratoire en France qui isole sur fibroblastes et sur cellules endothéliales et entretient des souches de cytomégalovirus provenant de tous types de prélèvements et de patients. Ces souches sont conservées dans la collection du CNR et pour un certain nombre d'entre elles, sont caractérisées pour leur génome entier ou leur génotype gB, gH, gN. Ces souches peuvent être mises à disposition de laboratoires de recherche via le CRBioLim.

(souligné = en évolution en 2023)

Collection biologique du CNR (laboratoire de Limoges):

- 1968 échantillons de sérum adressés pour primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont connues. Ces sérums sont conservés à -20°C.
- 129 Echantillons de sérums de primo-infection ou de réactivation positifs pour la recherche d'IgM provenant de l'hôpital Charles Nicolle à Tunis reçus en 2009 caractérisés en 2010 pour les glycoprotéines d'enveloppe gB gH gN.
- 50 urines de nouveaux-nés positives pour la recherche de CMV par culture
- 1772 salives d'enfants en crèche (PHRC Crech MV) dont 663 positives en PCR CMV et 212 caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN.
- 62 échantillons couplés de salive et de sérum prélevés sur volontaires sains, caractérisés pour la recherche du CMV salivaire et des anticorps sériques et salivaires issus du protocole ACMV.
- 1552 prélèvements spécifiques pour recherche de résistance de 2006 à 2016 caractérisés pour la séquence des gènes UL97 et UL54 dont 36 également caractérisés pour les glycoprotéines d'enveloppe gB, gH, gN.
- 3080 prélèvements spécifiques pour recherche de résistance de 2017 à 2023 caractérisés pour la séquence des gènes UL97, UL54, UL56, UL27, UL89 et UL51
- 3618 prélèvements issus de l'Observatoire des résistances 2006-2010
- 6139 prélèvements issus des 402 patients inclus dans ORPhaViC
- 1785 prélèvements de plasma ou de sang total issus du protocole Quantic R+
- 3260 prélèvements issus des 400 patients inclus dans NAVIRE
- 564 prélèvements issus des 24 patients inclus dans CIRCLE

- 33 Liquides amniotiques CMV positifs issus de cas de CMV congénital déclarés dans la base
- 6 urines de nouveau-nés CMV positives issus de cas de CMV congénital déclarés dans la base

Biothèque transférée progressivement vers la collection du CNR au sein du CRBioLim après vérification de non opposition :

- Souches d'HSV, de VZV isolées pour typage ou reçues pour phénotype de résistance antérieures à la création du CRBioLim
- Près de 13000 échantillons de sang totaux de patients transplantés conservés à -80°C depuis 2013

Biothèque spécifique du CNR pouvant être utilisée à des fins d'expertise et conservées dans la collection du CNR au CRBioLim

- 6840 sanguins totaux CMV positif ou négatifs aliquotés et mis en collection biologique pour les évaluations de trousse de PCR.
- 2040 plasma CMV et /ou EBV positif pour évaluation des trousse de PCR
- 565 souche HSV et CMV

Détails des collections “épisode viral” et “souches” du CNR en CRBioLim:

Collection	Nombre de patients donneurs en 2023	Nombre de ressources primaires entrées en 2023	Nombre de tubes entrés en 2023	Nombre total de donneurs au 31/12/2023	Nombre total de ressources primaires au 31/12/2023	Nombre total d'échantillons au 31/12/2023	Cession: patients	Cession: ressources primaires	Cessions: échantillons	
Sang total épisode viral	0	0	0	782	3070	6840	0	0	0	
Souches CMV HSV	0	0	0	246	269	565	2	2	2	cession 2023-007
Plasma épisode viral	0	0	0	478	792	2040	0	0	0	

Détails des souches : cellules infectées conservées en azote liquide et répertoriées au CRBioLim :

- Souches de référence : AD169, Towne, Toledo, Davis et Merlin (ATCC), VHLE, TB40E (don de S Chavanas, Toulouse).
- Souches recombinantes HCMC Bacmids, marquées à la GFP, portant des mutations de résistance au ganciclovir, au cidofovir, ou au Foscarnet, au maribavir ou au Ietermovir ou des polymorphismes.

Un total de 565 isolats cliniques parmi lesquels :

- 72 souches à tropisme endothérial isolées d'urines de nouveau-né atteints d'infection congénitale à CMV provenant du CNR et de laboratoires extérieurs dont 10 caractérisées pour la séquence de leur génome entier par séquencage haut débit sur Ion Proton.
- 21 Souches à tropisme endothérial isolées de liquide amniotique ou de fœtus
- 72 souches à tropisme endothérial isolées essentiellement en 2008 de la salive d'enfants de moins de trois ans (protocole FreChMV)
- 17 souches de patients transplantés caractérisées pour leur phénotype de résistance au ganciclovir, cidofovir et foscarnet dont 6 pour leur sensibilité au maribavir

Parmi ces souches 41 sont caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN (21 souches d'infection congénitale à CMV), 25 pour la séquence des gènes-cible des antiviraux (UL97, UL27, UL54, UL56, UL89, UL104) et le génotype gB

- Plus de 100 souches d'HSV1 et 2 et de VZV (souches de référence et isolats cliniques) disponibles pour essais antiviraux et pour tester des procédés de décontamination.

Laboratoire CNR associé Necker :

Biothèque propre du laboratoire de Virologie de Necker pouvant être utilisée dans le laboratoire à des fins d'expertises :

- Environ 3000 échantillons (0,5 à 2 ml) de sang total PCR CMV positive conservés à -80°C
- Biothèque spécifique du CNR constituée de 2006 à 2022
- Souchothèque : cellules MRC5 infectées conservées à -80°C: 250 souches (3 aliquotes par souche) responsables d'infection materno-fœtale isolées de liquide amniotique ou d'urine de nouveau-nés.
 - Environ 3000 prélèvements de liquides amniotiques testés en PCR CMV dont 370 positifs. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
 - 157 prélèvements de sang fœtal positifs conservés à -80°C.
 - 270 échantillons d'urine PCR CMV positive conservés à -80°C
 - 16512 échantillons salivaires obtenus de nouveau-nés et caractérisés en PCR CMV dont environ 800 positifs en PCR CMV. Ces prélèvements sont conservés à -80°C
 - 1500 échantillons de sérum obtenus chez des femmes enceintes en primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont bien répertoriées. Ces sérums sont conservés à -20°C.
 - 2474 échantillons de sang séché sur carton de Guthrie caractérisés en PCR CMV : dont 1019 PCR CMV négative provenant de nouveau-nés non infectés et 233 PCR CMV positive obtenus de nouveau-nés infectés par le CMV. Ces échantillons sont conservés à température ambiante. Par ailleurs, depuis 2021, nous stockons dans notre laboratoire tous les cartons de Guthrie prélevés en Ile de France les années N-2 et N-3 (soit environ 360 000 cartons de Guthrie). En effet, le Centre Régional de Diagnostic Néonatal d'Ile de France (CRDN) stocke pendant 1 an tous les cartons et ensuite au lieu de les détruire, il nous les transfère pour stockage pendant encore 2 années consécutives. Cela nous permet de répondre aux demandes de diagnostic rétrospectif plus tardives faites pour des enfants âgés de 1 à 3 ans (soit environ 25% des demandes). Cet accord a été possible car le CRDN est localisé dans le même établissement que notre laboratoire. Pour les enfants nés dans les autres régions les cartons de Guthrie ne sont stockés qu'un an.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière conserve dans une biothèque spécifique l'ensemble des prélèvements biologiques positifs en PCR HSV et en PCR VZV, ainsi que l'ensemble des prélèvements biologiques reçus au laboratoire pour effectuer une recherche de résistance des HSV, du VZV et du CMV aux antiviraux. Ces prélèvements sont conservés dans un congélateur -80°C dédié au CNR Herpèsvirus équipé d'une sonde de surveillance de la température 24h/24, 7j/7 (système Sirius) reliée à l'usine de l'hôpital. Pour l'année 2023, cela représente environ 1900 prélèvements de différentes natures (LCS, LBA, sanguins totaux, prélèvements cutanéomuqueux, prélèvements génitaux, prélèvements oculaires...) positifs pour HSV ou VZV et 297 prélèvements biologiques pour recherche de résistance des HSV, du VZV et du CMV aux antiviraux.

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière conserve également l'ensemble des souches de HSV-1, HSV-2 et VZV isolées en culture cellulaire à partir des prélèvements biologiques positifs en PCR diagnostique. Ces souches virales sont conservées dans un congélateur -80°C dédié au CNR Herpèsvirus équipé d'une sonde de surveillance de la température 24h/24, 7j/7 (système Sirius) reliée à l'usine de l'hôpital. Comme indiqué dans les rapports précédents, cette activité d'isolement des souches virales avait dû être momentanément suspendue du fait de la pandémie de COVID-19 et de la ré-organisation du laboratoire P2 du laboratoire de virologie pour le seul traitement des prélèvements biologiques suspectés d'être positifs pour le SARS-CoV-2. Cette activité a finalement pu être remise en place à la fin au cours du dernier trimestre 2022. Ainsi, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a pu reprendre ses activités de culture cellulaire, d'isolement de souches virales, ainsi que la réalisation de tests phénotypiques de résistance (antivirogramme) des HSV aux antiviraux (aciclovir et foscarnet) pour la caractérisation de mutations détectées par séquençage des gènes UL23 (thymidine kinase) ou UL30 (ADN polymérase) non décrites à ce jour et dont le rôle dans la résistance aux antiviraux est méconnue ; cf. infra : activité

de surveillance). En 2023, 150 souches de HSV et de VZV ont été isolées et conservées.

Dans le cadre de l'étude RetroAlpha 14-18, menée auprès de 49 laboratoires de virologie de France métropolitaine et d'Outre-mer (réseau French HSV VZV Study Group) sur les infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus (HSV et VZV), une biothèque de près de 300 reliquats de prélèvements de LCS positifs en HSV-1, HSV-2 ou VZV, prélevés dans le cadre du soin médical, a pu être constituée grâce à la contribution de certains laboratoires du réseau. L'étude transcriptomique et métatranscriptomique de ces LCS a été conduite en collaboration avec le Pr Christophe RODRIGUEZ (Hôpital Henri Mondor). Cette collection biologique a fait l'objet d'une déclaration de type CODECOH auprès du ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche (DC-2022-5365).

2.5 Activités d'expertises

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

CMV

Au cours de l'année 2023, le CNR de Limoges a reçu 442 sérum pour expertise essentiellement dans le cas de suspicion de primo-infection maternelle à CMV et pour quelques cas de discordances sérologiques lors de changement de technique. Ces prélèvements proviennent de différents CH, CHU et laboratoires privés de France (métropole et DROM) et de Suisse. La sérologie de contrôle est réalisée en priorité sur Liaison XL DiaSorin et l'avidité des IgG sur VIDAS bioMérieux pour les demandes provenant de l'extérieur. Le dosage des IgG est réalisé sur VIDAS bioMérieux en cas de bilan initial réalisé sur Liaison XL Diasorin. Les dosages d'avidité pour les bilans issus du CHU de Limoges sont en première intention réalisés sur Liaison XL en parallèle de la sérologie lorsque des IgM sont détectées ou en cas de séroconversion. En cas d'avidité ne permettant pas de dater l'infection avec l'un des 2 tests, le second test d'avidité est alors réalisé.

Depuis janvier 2020, un suivi régulier de la sérologie CMV a été émis en place pour les femmes suivies en gynécologie-obstétrique au CHU de Limoges. Une sérologie CMV (IgG + IgM) était réalisée au 1er, 2e, 3e trimestre et à l'accouchement. Toutes les patientes accouchant au CHU de Limoges n'ayant pas un suivi complet au CHU, l'ensemble des prélèvements ne sont pas disponibles pour toutes les patientes accouchant au CHU. A l'issu des 2 premières années de mise en place de ce dépistage, nous avons décidé de diminuer le nombre de prélèvements au cours de grossesse en supprimant celui du 3^e trimestre, les infections à cette période de grossesse n'étant pas à l'origine d'atteintes fœtales. Dans le cadre du dépistage mis en place au CHU de Limoges, 5920 sérologies ont été réalisées pour 3033 femmes soit en moyenne 2 prélèvements par patiente en 2023. Nous avons mis en évidence une séroprévalence du CMV de 62% dans cette population. Suite au dépistage sérologique, nous avons analysé 16 liquides amniotiques. Aucune infection congénitale à CMV n'a été détectée par PCR.

En 2023, nous avons détecté 19 primo-infections chez les femmes enceintes avec le Liaison XL et 11 avec le VIDAS sur l'ensemble des prélèvements analysés au laboratoire.

Dans le cadre du dépistage de l'infection congénitale à CMV à la naissance, le screening des nouveau-nés est effectué par PCR sur urine ou salive devant tout RCIU, tout signe compatible avec une primo-infection CMV ou suite à une infection maternelle durant la grossesse. Le dépistage mis en place pour toutes les grossesses suivies au CHU a permis de mettre en évidence la détection plus spécifique des nouveau-nés infectés. Au cours de l'année 2023, nous avons réalisé 135 PCR sur urine et 19 PCR sur salive permettant de détecter 5 nouveau-nés infectés.

Pour le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV, nous avons également réalisé 21 PCR sur des cartons de Guthrie. Un diagnostic confirmé d'infection congénitale à CMV a pu être posé chez un enfant

Nous avons également reçu 422 échantillons pour génotype de résistance CMV (cf surveillance), 129 échantillons pour test Quantiféron CMV (cf surveillance), 12 échantillons pour charge virale TTV, des plasmas pour dosages d'antiviraux (ganciclovir, letermovir, maribavir) (n=47) et des souches pour antivirogramme (moins de 10 par an). Le détail de ces analyses est précisé dans le paragraphe sur la surveillance assurée par le CNR.

HSV / VZV

Au cours de l'année 2023, le laboratoire du CNR Limoges a réalisé des analyses de sérologie et de biologie moléculaire provenant de laboratoires extérieurs (CHU, CH et laboratoire privés) pour expertise :

- **Sérologies HSV1-2** pour contrôler des résultats obtenus par une autre technique (n=7)
- **PCR HSV-1, HSV-2 ou VZV** effectuées sur des prélèvements cutanéomuqueux, du LCR notamment en contrôle des résultats du kit film array (BioMérieux) ou du sang total (n= 45)
- **Résistance génotypique des HSV et VZV aux antiviraux.** Le CNR de Limoges a reçu 24 prélèvements pour recherche de résistance : HSV (n=24), VZV (n=0). Les données ont été transférées aux CNR de la Pitié-Salpêtrière pour colliger l'ensemble des données nationales sur la résistance des alpha-herpesvirus aux antiviraux (cf chapitre correspondant).

Laboratoire CNR associé Necker :

Activités d'expertise Necker 2023	Sérologie maternelle IgG, IgM et IgG avidité	Diagnostic prénatal PCR CMV liquide amniotique, sang fœtal, biopsie trophoblaste	Diagnostic néonatal PCR CMV salivaire	Diagnostic post natal PCR CMV sang séché Guthrie
Nombre total	375	6 PSF, 316 LA	3257	270
Provenance	Ile de France (APHP, CHG, LABM)	APHP, Foch, Hôpital Américain, Amiens, Orléans	Ile de France (APHP, CHG)	Ile de France, Caen, Rouen, Brest, Rennes, Nantes, Toulouse, Grenoble, Lille, Réunion, Reims, Nancy, Lyon, St Etienne, Mayotte CHU, CHG, ORL ville, CAMPS
Délai de rendu moyen	4 jours	2 jours	2 jours	3 semaines
Caractéristiques des cas	176 primo-infections du 1 ^{er} trimestre ou périconceptionnelle. 84 de ces patientes ont été traitées par valaciclovir dans notre centre en préventif et avec 6% de fœtus infectés à l'amniocentèse	15 fœtus infectés après infection maternelle du 1^{er} trimestre 1 IMG pour lésions sévères 10 naissances asymptomatiques 4 grossesses en cours 4 fœtus infectés après infection maternelle non-primaire : 2 IMG pour lésions sévères, 1 enfant né asymptomatique, 1 enfant né avec surdité bilatérale	23 positifs 6 infectés après primo-infection du 2 ^{ème} ou 3 ^{ème} trimestre : tous asymptomatiques 6 infectés après infection maternelle non primaire : découverte naissance : 5 asymptomatiques 1 découverte tardive sur signes échographiques : retard psychomoteur 11 infectés après primo-infection du 1 ^{er} trimestre : 7 dépistage sérologique et traitement préventif par valaciclovir : 2 avec PCR CMV positive dans le liquide amniotique	20 positifs 14 dans le cadre d'un diagnostic rétrospectif devant une surdité+/-signes neurologiques 6 asymptomatiques , diagnostic fortuit devant une PCR CMV positive après 3 semaines de vie

			<p>5 avec une PCR CMV négatives dans le LA : infection tardive</p> <p>7 asymptomatiques</p> <p>4 pas de dépistage sérologique, pas de valaciclovir préventif : 2 surdité unilatérale, 2 séquelles neurologiques</p>	
--	--	--	---	--

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Dans le cadre de son activité d'expertise, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a effectué les actes suivants au cours de l'année 2023 :

- **Sérologies HSV et VZV** effectuées sur des sérum en provenance de laboratoires extérieurs (CHU, CH, privés) pour contrôler des résultats obtenus par une autre technique ou pour effectuer la sérologie différenciée HSV-1/HSV-2 : 25 prélèvements
- **PCR HSV-1, HSV-2 ou VZV** effectuées sur des prélèvements biologiques divers (LCS, cutanéomuqueux, LBA...) en provenance de laboratoires extérieurs (CHU, CH, privés) pour contrôler des résultats obtenus par une autre technique de biologie moléculaire (notamment des résultats obtenus sur LCS avec le panel méningoencéphalite FilmArray [bioMérieux] ou parce que certains prélèvements ne sont pas pris en charge par certains laboratoires [ex : sang total] : 30 prélèvements
- **Résistance génotypique des herpès-virus aux antiviraux.** Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a reçu 297 prélèvements biologiques pour effectuer une recherche de résistance des HSV (n=142), VZV (n=23) et CMV (n=132) aux antiviraux. Pour 75 prélèvements, l'analyse n'a pas été effectuée pour les raisons suivantes : charge virale trop faible, prescription hors indications. Un test génotypique de résistance aux antiviraux a finalement été effectué pour 222 prélèvements (soit 75% des prélèvements reçus) : 114 pour les HSV, 13 pour le VZV et 95 pour le CMV (*cf. infra : activités de séquençage*).

2.6 Activités de séquençage

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Le CNR de Limoges a reçu 446 demandes de recherche de résistance (CMV et HSV) au cours de l'année 2023. Cette activité a conduit à la production de 664 séquences Sanger pour les gènes UL97 et UL54 du CMV, 126 séquences pour les gènes UL56 et UL89 du CMV, 36 séquences pour le gène UL27 et 30 séquences pour les gènes UL23 et UL30 d'HSV.

L'ensemble de ces données sont stockées sur le serveur du CHU de Limoges.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Interne au bâtiment : Plateforme de séquençage du CHU de Limoges dont le CNR est responsable (S Alain responsable d'UF)</p> <p>Au sein du laboratoire CNR : préparation des librairies pour séquençage NGS avec une enceinte de protection ADN et un matériel/paillasses dédiés. Dans cette pièce se trouvent 1 préparateur de Librairies AB Library Builder (Life Technologies) et un automate de préparation des séquences Ion Chef et de chargement des puces pour les séquenceurs NGS proton (Life technologies) depuis 2020.</p>

	<p>Sur la plate-forme de génomique médicale du CHU dans le bâtiment des laboratoires :</p> <p>Sanger : 1 séquenceur 3500 XL Dx 24 capillaires CEIVD en remplacement des 16 capillaires depuis de 2017 pour les analyses génotypiques par méthode Sanger</p> <p>NGS :</p> <p>2 séquenceurs S5 (Ion Torrent Life technologies) depuis fin 2018, mise en fonction en 2019.</p> <p>1 mini séquenceur long range « min Ion » CNR depuis décembre 2016.</p> <p>2 séquenceurs MiSeq (Illumina)</p> <p>1 séquenceur moyen-Haut débit Next-Seq 1000 (Illumina)</p>
--	---

(cf détail des méthodes dans le rapport 2018) nous avons conservé la technologie Ion Torrent, et fait évoluer notre équipement vers un proton S5 plus, permettant d'analyser des fragments longs, de 700 bases.

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Interne : UF de bioinformatique médicale à laquelle le CNR participe (V Tilloy, bioinformaticien du CNR)</p> <p>Logiciel Geneious pour l'analyse des séquences Sanger</p> <p>Outils Maison développés par Valentin Tilloy pour le NGS: après AspiCoV pour Sars-CoV2, V Tilloy a développé AspiCMV (pipeline d'analyse des séquences whole genome ou gène par gène du CMV) et le CNR a développé une base de données des mutations de résistance, et polymorphismes du CMV en libre accès (CodexMV5, sur le site du CNR) dernière mise à jour mars 2024</p>

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Pour suivre l'épidémiologie des souches de CMV échappant aux antiviraux et des souches de CMV transmises au fœtus.</p> <p>Pour développer les techniques de séquençage dans les eaux usées pour différents virus</p>

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)
Génotypage des souches de CMV, génotype de résistance, en première ligne, analyse whole genome CMV, phylogénie, analyse de variabilité et prédition de structure, analyse en PCA à visée épidémiologique et physiopathologique ou en réponse à des demandes d'autres équipes.
En cours, un projet International de comparaison des souches de CMV mère-enfant avec l'équipe de Judith Breuer (Royal hospital Londres UK) pour lequel les souches françaises déclarées dans la base de donnée seront séquencées au CHU de Limoges et agrégées au projet International.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :	
Sans objet pour les Herpesvirus	

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :
Séquençage des gènes de résistance de toutes les souches reçues
Whole genome CMV des souches d'infection congénitales à CMV et de souches de crèche (en cours).

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?
Dans les bases de données fermées : NAS du CHU de Limoges (stockage sécurisé) et banque de séquence Fasta pour les génotypes de résistance Sanger, dans le serveur sécurisé du CHU.
Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadata associées : GenBank pour les génomes entiers et les nouvelles mutations publiées.

Laboratoire CNR associé Necker :

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès externe au CNR : Nextseq 500 plateforme de séquençage de l'Hôpital Necker ; MiniSeq au sein du laboratoire de microbiologie Nextseq 500 ; MiniSeq

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès externe au CNR : plateforme Galaxie APHP

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input checked="" type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input type="checkbox"/> OUI	Si OUI, précisez pour quelles activités. Indiquez s'il s'agit d'investigations d'épidémies ou d'investigations intervenues dans le cadre de la surveillance.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès interne au CNR Séquenceur capillaire (Sanger) ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems), séquenceur NGS GridION (Oxford Nanopore Technologies), séquenceur NGS iSeq 100 (Illumina)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Accès interne au CNR</p> <p>Différents outils commerciaux, open access ou faits maison sont utilisés. Un ingénieur (poste universitaire Sorbonne Université) participe à l'analyse des données bio-informatiques du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière. En 2023, un ingénieur dédié au CNR (José Fernandez) a été recruté et se forme pour effectuer ces analyses.</p>

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Si OUI, précisez pour quelles activités. Indiquez s'il s'agit d'investigations d'épidémies ou d'investigations intervenues dans le cadre de la surveillance.

<p>Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)</p> <p>Diagnostic de la résistance génotypique des herpèsvirus aux antiviraux (HSV, VZV et CMV), épidémiologie moléculaire du VZV</p>	
--	--

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :	
Sans objet pour les herpèsvirus	

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :	
En 2023, 297 prélèvements ont été reçus au CNR associé de la Pitié-Salpêtrière pour recherche de résistance aux antiviraux	<p>La recherche de résistance aux antiviraux est effectuée selon certains critères : charge virale suffisante dans le prélèvement (une PCR est effectuée sur chacun des prélèvements reçus) et respect des indications (durée de traitement antiviral minimale reçue par le patient : 7 à 10 jours pour les HSV, 10 à 14 jours pour le VZV, au moins 14 jours pour le CMV). En 2023, 75 prélèvements ne respectaient pas ces critères. Un test génotypique de résistance aux antiviraux a finalement été effectué pour 222 prélèvements (soit 75% des prélèvements reçus) : 114 pour les HSV, 13 pour le VZV et 95 pour le CMV</p>

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?	
Dans les bases de données fermées : L'ensemble des séquences obtenues dans le cadre de la recherche de résistance des HSV (UL23, UL30, UL5, UL52), du VZV (ORF36, ORF28, ORF55, ORF6) et du CMV (UL97, UL54, UL56, UL89) aux antiviraux par méthode Sanger sont conservées au CNR dans une banque de séquences dédiée (format FASTA) sur le serveur sécurisé de la Pitié-Salpêtrière. Cela représente près de 700 séquences en 2023.	
Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadata associées : GenBank pour les séquences publiées (épidémiologie, résistance)	

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

- GenBank : 173 séquences consensus (13 issues de séquençage Sanger et 160 de NGS) d'Herpesvirus déposées en 2023
- Ces séquences de génome entier y compris celles non encore disponibles dans la GenBank, ont été mises à profit par nos collaborateurs académiques pour l'analyse de gènes cibles d'anticorps monoclonaux ou pour l'analyse de variabilité des gènes de la réponse immune, de cibles d'antiviraux ou l'analyse du comportement en placenta du CMV (travaux 2023), et seront partagées dans le cadre du projet européen H2021 HoRUS 2023-2027 (voir site internet du projet) auquel nous participons pour l'analyse virologique des souches de CMV chez les patients réfractaires ou répliquant sous prophylaxie.

Mise à disposition de pipelines

En 2020, conformément à la vocation des plateformes NGS des CNRs de proposer leurs moyens à d'autres applications microbiologiques, nous avons mis en place un pipeline d'analyse pour le séquençage du génome du SARS-COV2 (Tilloy V. et al., plos pathogens 2021) et aidé les équipes en place à développer le séquençage ampliseq du SARS-COV2.

Ce pipeline ASPIcov était indispensable pour les analyses de prélèvements complexes mais a été largement utilisé pour les analyses des prélèvements de patients, couplé à Pangolin. Il a servi d'essai pour développer le pipeline AspiCMV actuellement en place au laboratoire CNR rendu public en 2023.

ASPICmv est un pipeline dérivé de ASPIcov utilisé pour le traitement des données NGS (Iontorrent ou Illumina) des séquences Herpesvirus (génomes entiers ou amplicons).

Le pipeline a été développé dans un environnement Nextflow associé à des outils encapsulés (conteneurs Singularity) afin d'assurer une analyse de données portative, rapide et reproductible.

Le principe est d'estimer la qualité des données, effectuer un trimming si nécessaire, réaliser un alignement, un appel de variants, un consensus et de générer un rapport récapitulatif sur chacun des échantillons du run. Chaque étape a été optimisée et est accompagné de fichiers et figures de résultats.

Il est actuellement partagé avec Grenoble (R Germi) pour évaluation sur les séquences Minlon.

Un pipeline plus large générique (Microbic) pour l'analyse de virus ou de bactéries est développé et en cours de test pour les virus il permettra d'analyser notamment EBV, HHV6, HSV 1 et 2 et VZV mais aussi des génomes bactériens, le VRS et d'autres virus respiratoires.

3. Activités de surveillance

Faits marquants :

Elargissement net du réseau de partenaires pour la surveillance des infections maternofoetales

Mise en place d'un réseau entre le CNR de Limoges et le laboratoire de Pharmacologie de Bichat, paris, pour rassembler les informations concernant les dosages d'antiviraux. Participation du CNR au groupe ANRS pharmacologie

Développement d'une base de données clinico-biologique pour le registre des résistances du CMV aux antiviraux dans l'objectif d'une validation CNIL.

Elargissement des activités de surveillance CMV au réseau international de transplantation européen via l'ESOT (*European Society for Organ Transplantation*).

Consolidation du réseau « HSV VZV French Study Group »

3.1 Description du réseau de partenaires

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Réseau de surveillance des infections materno-foetales (HSV et CMV) :

On note un élargissement net du réseau de partenaires (158 médecins déclarant sur la plateforme de déclaration en ligne)

Pour la surveillance des infections materno-fœtales (infections néonatales à HSV, infections congénitales à CMV), le réseau de partenaire était composé en 2023 de 77 CPDPN/obstétriciens, 57 laboratoires, 79 pédiatries et autres spécialités (pour le suivi de l'enfant), réparties dans 43 villes recouvrant les 12 régions de la France métropolitaine et 5 départements d'outre-mer.

Evolution du réseau de partenaires pour la surveillance des infections néonatales à HSV et des infections congénitales à CMV			
Année	2021	2022	2023
Laboratoires	55	55	57
CPDPN / Obstétriciens	69	70	77
Pédiatries / ORL	74	76	79
Médecins ayant un accès à la plateforme Voozanoo (déclaration en ligne / CMV congénital)	131	137	164

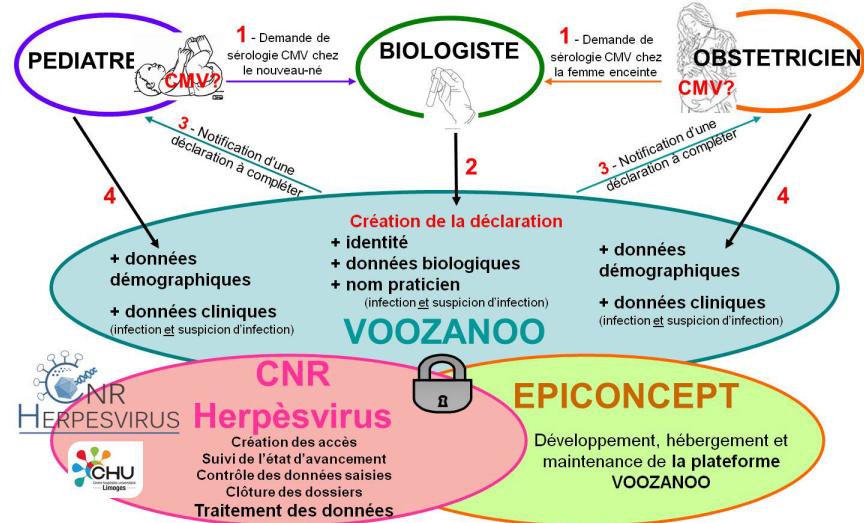
Au sein de ce réseau, 158 médecins ont un accès à la plateforme de déclaration en ligne des infections congénitales à CMV, ce qui représente 21 de plus par rapport à l'année 2022.

Cf annexe : Réseaux de surveillance : Réseau de partenaires pour la déclaration en ligne des cas d'infection congénitale à CMV (plateforme Voozanoo)

Cf site internet de « la Fédération Française des Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal » : <http://www.cpdpn.fr/>

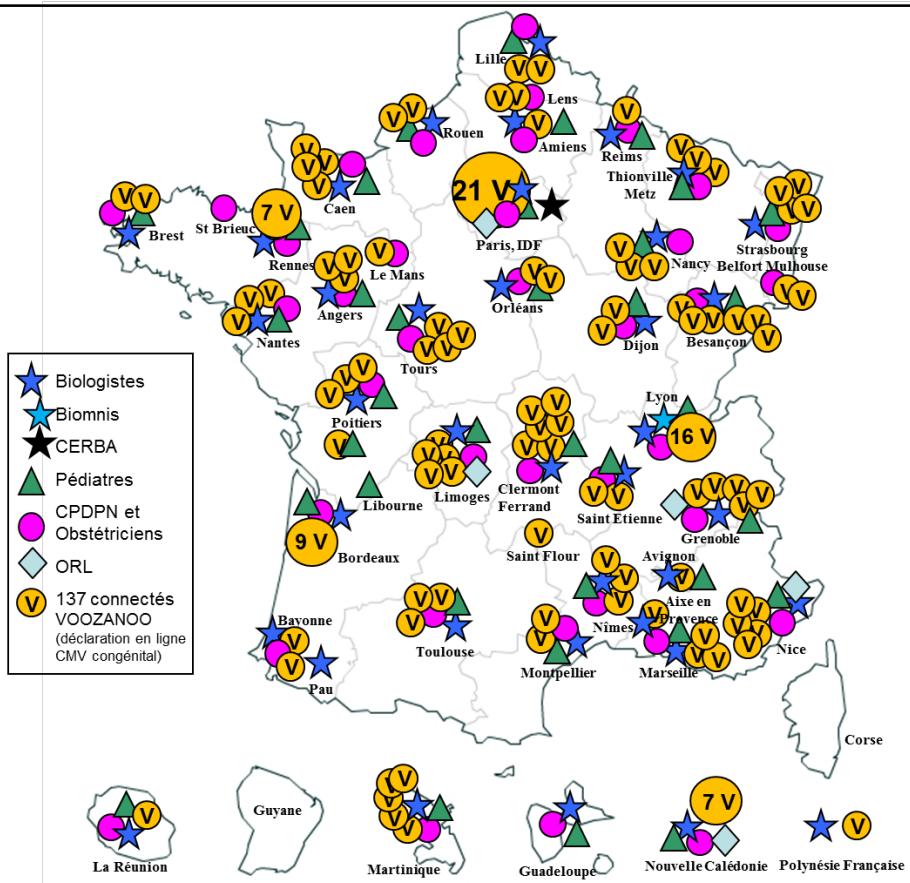
La base CMV congénitale est une base de données nationale utilisant le logiciel VOOZANO, gérée par le laboratoire coordonnateur au CHU de Limoges. Elle est opérationnelle et autorise des développements vers des bases d'imagerie notamment échographique ou RMN permettant également aux praticiens de confronter leurs cas cliniques aux cas déjà identifiés. Cette base a reçu l'autorisation du CCTIRC et de la CNIL le 24 novembre 2015.

Déclaration au CNR des infections et suspicions d'infection par le CMV chez la femme enceinte et le nouveau-né
Procédure en ligne VOOZANOO



Répartition géographique du réseau en 2023 :

Répartition géographique du réseau de surveillance des infections materno-fœtales en 2023



Résistance du CMV aux antiviraux

Le réseau couvre déjà le territoire national. Nous avons développé des collaborations avec les laboratoires espagnols qui nous envoient leurs mutations à expertiser. Nous recevons également régulièrement les demandes de recherche de résistance provenant de Suisse (CH Lausanne et CH Genève). Les centres effectuant leurs propres analyses de recherche de résistance (CHU Saint Louis, Paris (anciennement laboratoire associé au CNR), Nantes et Rennes) nous envoient les données afin que nous puissions établir un bilan des mutations de résistance sur le territoire et tester les nouvelles mutations à l'aide de virus recombinants.

S'ajoutent à ce réseau les données des cohortes mises en place par le Laboratoire CNR pour une surveillance des facteurs de risque de résistance et de l'utilisation des nouveaux antiviraux (OrPhaViC, PHRC National 2012-2016) puis NaViRe (en collaboration avec la SFGMTC, en greffe de cellules souches, depuis juillet 2020). Et la surveillance des molécules en ATU par le Laboratoire CNR, pour le letermovir (2018-2019), puis pour le maribavir (en cours).

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Résistance des HSV et du VZV aux antiviraux : Hormis le laboratoire associé de la Pitié-Salpêtrière et le laboratoire coordonnateur de Limoges, seul le laboratoire de virologie des HCL (Dr Emilie Frobert et Pr Florence Morfin) effectue la recherche de la résistance des HSV et du VZV aux antiviraux en France, et le laboratoire de virologie de l'hôpital Saint-Louis, AP-HP (Pr Jérôme LeGoff) effectue les recherches de résistance des HSV aux antiviraux. Ces 4 laboratoires recensent donc l'ensemble des recherches de résistance des HSV et du VZV aux antiviraux au niveau national.

Réseau « HSV VZV French Study Group » constitué de 49 laboratoires de virologie ou microbiologie répartis sur l'ensemble du territoire national (47 en Métropole et 2 en Outre-Mer) : 10 CHU AP-HP, 26 CHU hors AP-HP, 10 CH, 1 HIA, 2 laboratoires privés. Il a notamment permis le recueil des données épidémiologiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques, ainsi que les échantillons de LCS, dans le cadre de l'étude RetroAlpha 14-18.

Une réunion de réseau sera organisée par le laboratoire coordonnateur avant l'été, pour échanger sur les projets du CNR avec les laboratoires du réseau, partager les évaluations de méthodes, informer sur les nouvelles techniques disponibles, sur les dernières données des différentes bases, et les dernières recommandations en cours.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

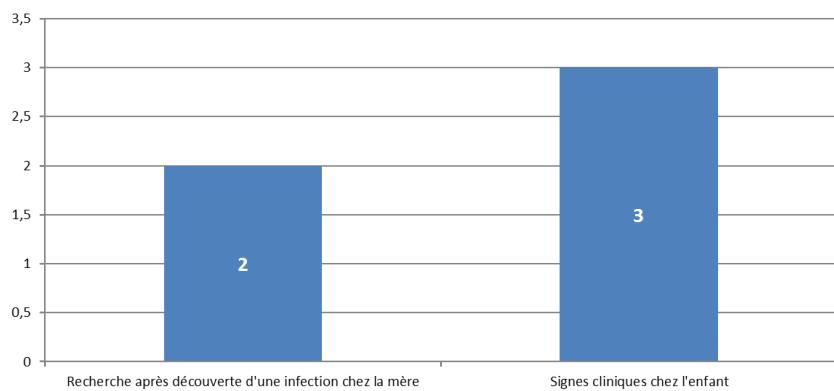
3.2.1 Surveillance des infections néonatales à Herpes simplex

De 2017 à 2023, la fréquence se situe aux alentours de 2 cas d'infection néonatale à HSV déclarés pour 10000 naissances :

Nombre de cas de HSV néonatal déclarés	Nombre de naissances annuel dans les centres concernés
96	481705
Incidence	
0,020%	

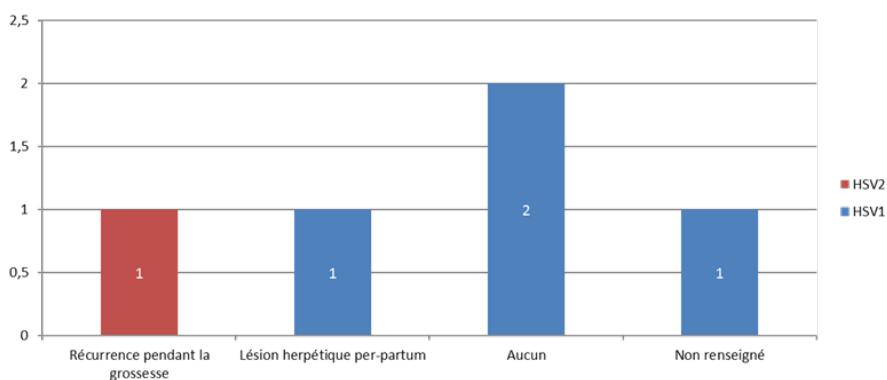
En 2023, 5 cas d'herpès néonatal ont été déclarés :

Contexte de la découverte des infections néonatales à HSV déclarés en 2023



Dans 66% des cas, il n'y avait pas d'antécédent maternel d'herpès génital :

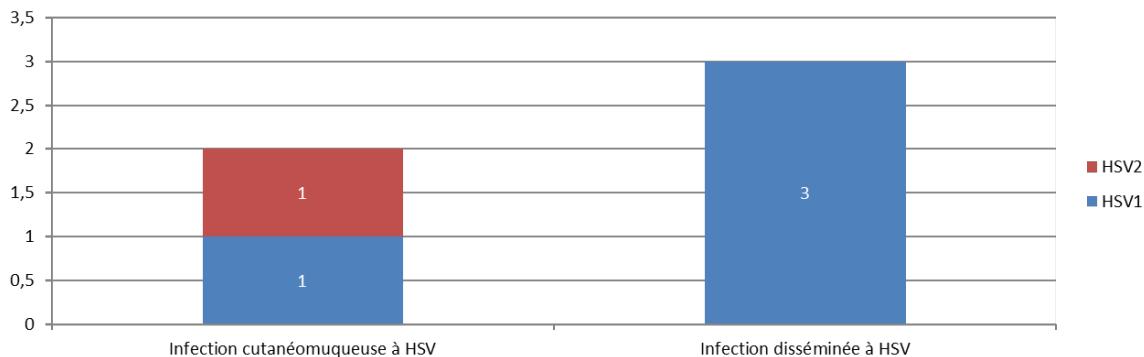
Antécédents maternels d'herpès génital et types d'infection néonatale en 2023



En 2023, ont été déclarés 2 infections cutanéomuqueuses à HSV et 3 infections disséminées à HSV.

80% de ces infections étaient dues à HSV1.

Tableau clinique des infections néonatales à HSV déclarées en 2023



Sur les 5 cas d'infection néonatale à HSV déclarés en 2023, 4 ont été traitées par un antiviral (aciclovir) et 1 nourrisson n'a pas été traité (diagnostic rétrospectif).

En 2023, un diagnostic rétrospectif d'infection à HSV1 néonatale disséminée a été réalisée suite au décès du nouveau-né à 7 jours de vie. En résumé, le nouveau-né a été hospitalisé à J6 pour refus d'alimentation dans un contexte de choc septique, CIVD, détresse respiratoire, hépatomégalie et ascite. Transféré en réanimation à J7, le nouveau-né est décédé dans un tableau de défaillance hémodynamique le jour même. Dans les explorations complémentaires, il a été mis en évidence une PCR sanguine HSV1 à 8.7 log (454 042 976 copies/ml) confirmant le diagnostic d'infection à HSV1 néonatale disséminée.

3.2.2 Surveillance nationale des cas d'infection congénitale à CMV

Fin 2016, a été instaurée la déclaration en ligne sur la Plateforme Voozanoo™ (Epiconcept). Les données maternelles, fœtales et néonatales sont collectées directement sur ce site. La transition vers ce mode de déclaration est encourageante.

Tous les cas ont été saisis dans cette base de données, soit par les médecins, soit par le CNR Herpès Virus à partir de fiches papier, tableur Excel ou comptes rendus d'hospitalisation.

A noter, les fiches papier ont été supprimées fin 2018.

Entre 2017 et 2023 la grande majorité des cas sont déclarés en ligne. Les cas 2023 ont tous été déclarés en ligne.

A) En 2023

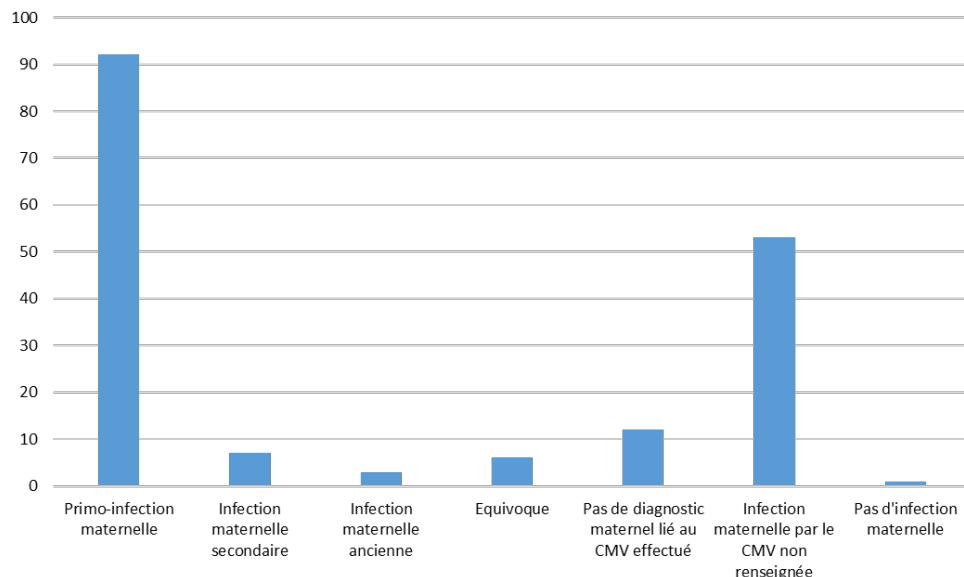
En 2023, 174 fiches ont été enregistrées dans la base. Elles regroupent :

- Les infections maternelles documentées
- Les suspicions d'infection maternelle
- Les infections diagnostiquées en période anténatale
- Les suspicions d'infection en période anténatale
- Les infections des nouveau-nés

- Les suspicions d'infection des nouveau-nés

Toutes ne sont pas complètement renseignées, selon la période à laquelle de diagnostic a été posé (difficulté à récolter les données sur la grossesse au moment du diagnostic du nouveau-né, grossesses perdues de vue...):

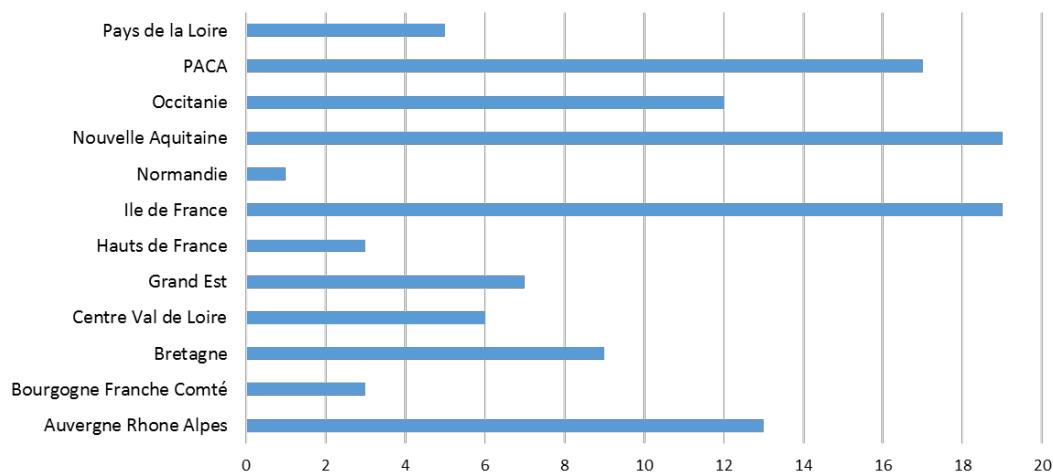
Diagnostic maternel des 174 fiches déclarées



Au total, en 2023, dans la base de données du CNR Herpès Virus, 114 infections congénitales ont été recensées soit en cours de grossesse, soit à la naissance :

La répartition des cas dans les différentes régions de France est présentée ci-dessous :

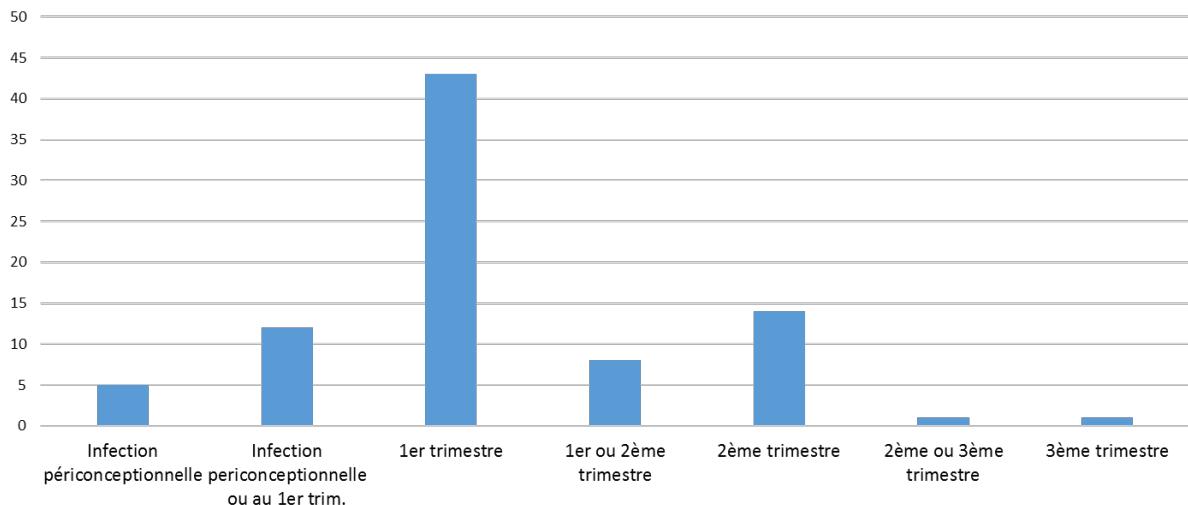
Infections congénitales 2023: répartition géographique



1) Primo-infections maternelles en 2023

Nombre total de **primo-infections maternelles** par le CMV en 2023 : **92** (8 dont le trimestre de séroconversion est non documenté).

Primo-infections maternelles par le CMV en 2023: trimestre d'infection



2) Investigations anténatales en 2023

Parmi les 174 fiches déclarées, 99 ont fait l'objet d'investigations anténatales.

Sur **70 échographies** réalisées et renseignées, sont recensés :

- 3 cas d'anomalies abdominales
- 12 cas d'anomalies cérébrales
- 6 retards de croissance intra-utérine
- 1 cas d'anomalies du liquide amniotique
- 2 cas d'anomalies du placenta
- aucun cas d'anomalie du thorax

8 IRM ont été effectuées et renseignées, qui retrouvent 1 cas d'anomalies cérébrales.

83 amniocentèses ont été réalisées et renseignées, pour lesquelles on retrouve : 53 PCR CMV positives

3 ponctions de sang fœtal ont été réalisées et renseignées en 2023, toutes avaient une PCR CMV positive.

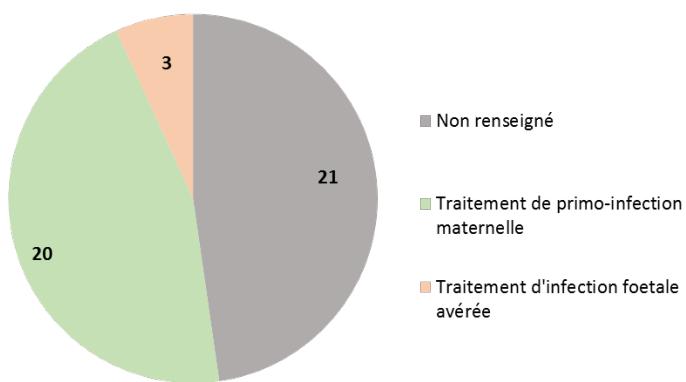
Au total, 54 diagnostics anténataux ont conclu à une infection congénitale par le CMV : aucun après examen biologique anténatal seul, 1 seul après imagerie fœtale seule, 45 après les deux types d'investigation.

3) Traitement antiviral pendant la grossesse en 2023

44 patientes ont été traitées pendant la grossesse dont **42 par valaciclovir, 1 par valganciclovir et 1 par immunoglobulines.**

Ci-dessous les raisons du traitement en cas de primo-infection maternelle :

Raison du traitement maternel en 2023



Les issues de grossesse des mères traitées ont été 34 naissances et 1 mort fœtale in utero (9 issues de grossesse sont non renseignées).

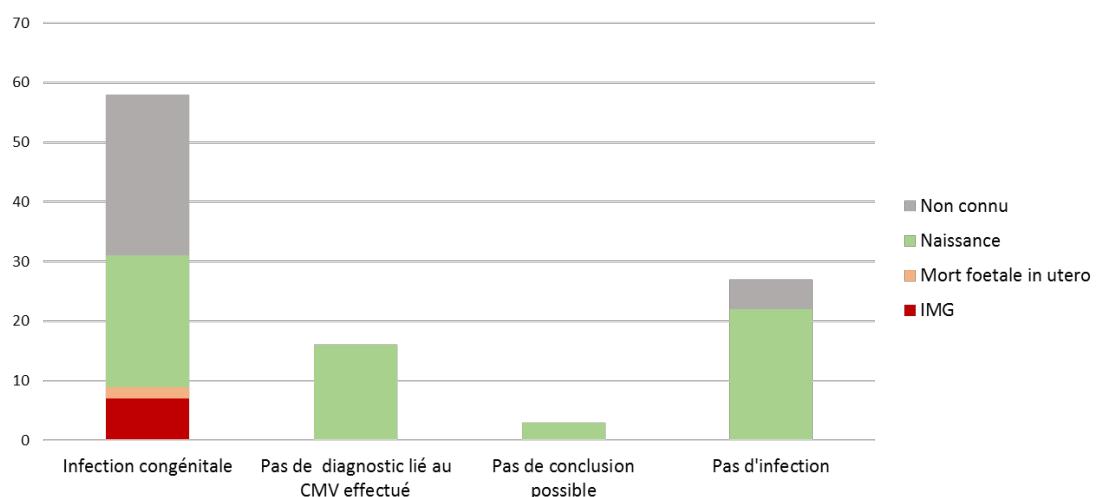
Sur les 34 naissances issues de mères traitées pendant la grossesse, 16 enfants avaient une infection congénitale, et 9 n'avaient pas d'infection (9 non renseignés).

4 enfants infectés sont nés asymptomatiques, 1 avait une symptomatologie modérée et 1 avait une symptomatologie sévère (10 non renseignés).

4) Issue des grossesses en 2023

En 2023, sur le total des 174 déclarations, **122 naissances** ont été répertoriées, ainsi que **8 interruptions médicales de grossesse (IMG)** et **2 morts fœtales in utero (MFIU)**.

Diagnostics anténataux et issues des grossesses en 2023



5) Investigations néonatales

84 recherches d'infection congénitale à CMV à la naissance par analyses biologiques ont été recensées :

- 17 PCR CMV sur salive (13 résultats positifs)
- 41 PCR sur sang total (37 résultats positifs)
- 75 PCR CMV sur urines (64 résultats positifs)

Ce qui porte à 114 le nombre total d'infections congénitales diagnostiquées.

50 issues de primo-infection documentées, 5 issues d'infections secondaires, 4 avec des avidités équivoques, 11 sans diagnostic maternel posé et 43 non documentées.

6) Symptomatologie des nouveau-nés infectés en 2023

La classification des cas est la suivante :

- infections sévères : cas associés à des signes cérébraux
- infections modérées : cas associés à des signes extra-cérébraux
- infections légères : cas associés à des signes extra-cérébraux isolés
- infections asymptomatiques
- cas non documentés

Sur les 114 infections congénitales à CMV, nous avons répertorié (quand cela est documenté) 7 IMG, 2 MFIU et 76 enfants nés vivants.

A la naissance :

Parmi les 76 enfants nés infectés : 14 nouveau-nés sont symptomatiques avec signes cliniques d'infection congénitale à CMV à la naissance, 33 asymptomatiques et 29 non documentés.

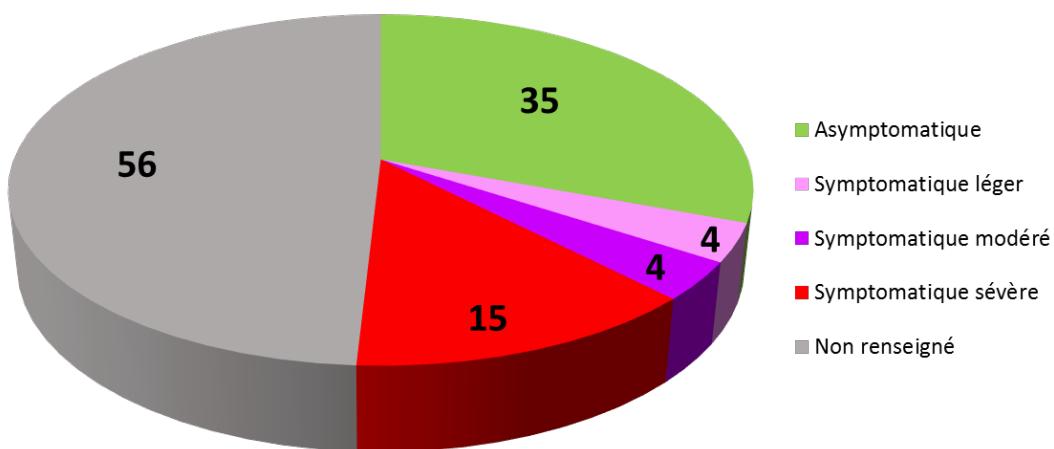
A la déclaration :

Sur ces 114 infections congénitales à CMV, 35 sont asymptomatiques, 23 sont symptomatiques (4 légers, 4 modérés, 15 sévères), et 56 sont non documentés.

Pour 50 primo infections documentées : 6 sévères, 1 modéré, 12 asymptomatiques et 31 non documentés.

Pour 5 infections secondaires documentées : 2 asymptomatiques et 1 sévère (2 non renseignés).

Classification des infections congénitales à CMV déclarées en 2023 (n=114)



Signes cliniques à la naissance des 23 cas symptomatiques en 2023 :

- 2 cas renseignés de surdité à la naissance (1 unilatérale, 1 bilatérale)
- 1 cas de microcéphalie
- 5 cas de RCIU
- 2 naissances prématurées
- 2 cas d'hépatosplénomégalie
- 2 cas de purpura

Aucun cas d'infection congénitale déclaré en 2023 n'a conduit au **décès du nouveau-né**.

7) Traitement des 76 nouveau-nés vivants infectés en 2023

31 n'ont pas été traités

- 28 étaient asymptomatiques,
- 2 étaient symptomatiques légers
- 1 était symptomatique sévère

12 nouveau-nés ont été traités par un antiviral (9 par valganciclovir, 3 par ganciclovir) :

- 2 étaient asymptomatiques
- 2 étaient symptomatiques légers
- 3 était symptomatique modéré
- 4 étaient symptomatiques sévères
- 1 symptomatologie d'enfant traité n'est pas documentée

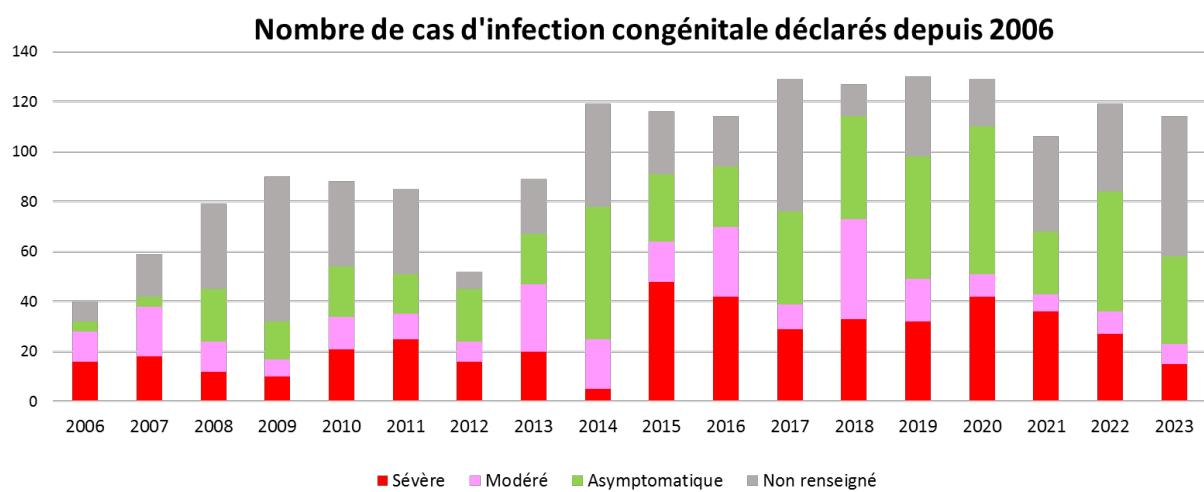
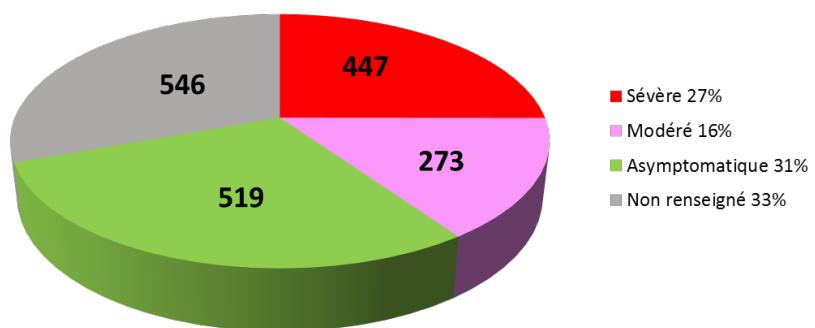
B) Bilan 2006 à 2023

De 2006 à 2023, nous avons recueilli **1785 cas d'infections congénitales à CMV** :

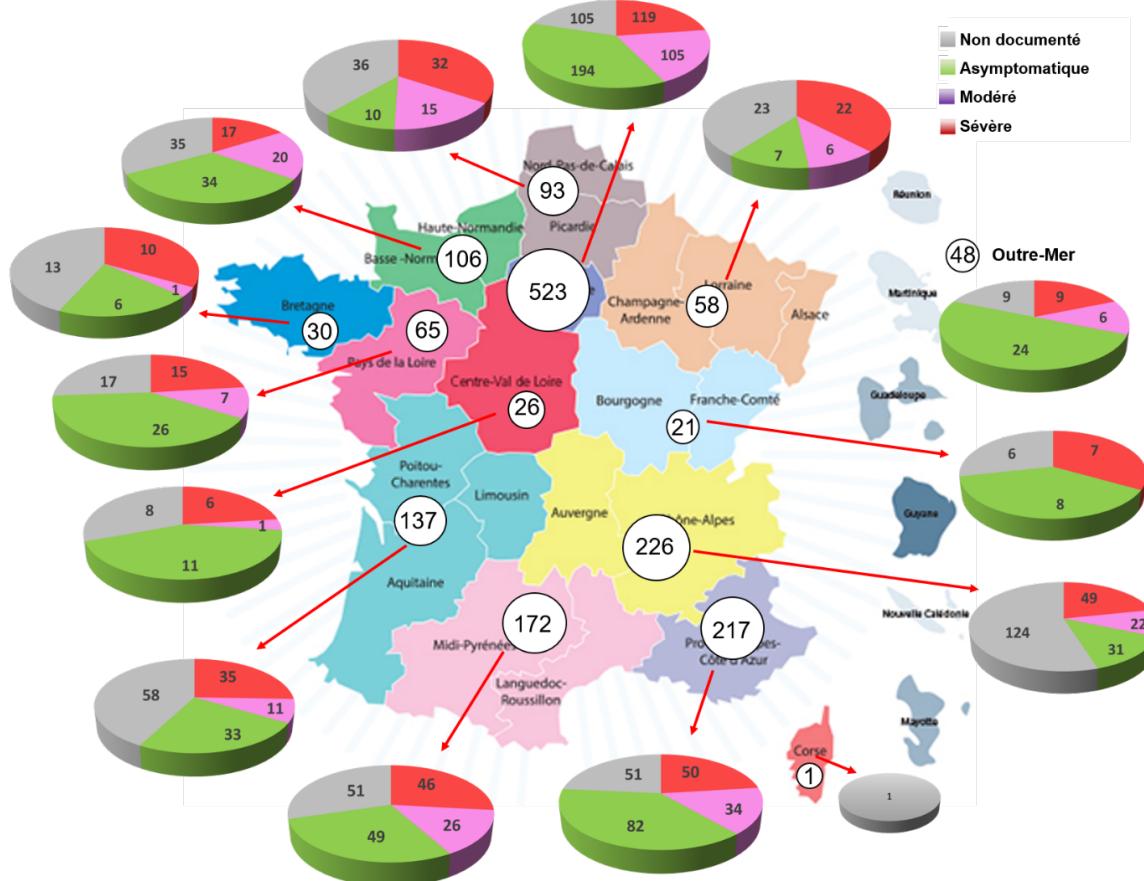
Les cas déclarés ont été classés en fonction des signes cliniques associés

- infections sévères : cas associés à des signes cérébraux
- infections modérées : cas associés à des signes extra-cérébraux
- infections asymptomatiques
- cas non documentés

Classification des infections congénitales à CMV déclarées depuis 2006



Répartition des cas déclarés d'infection congénitale à CMV sur le territoire français de 2007 à 2023

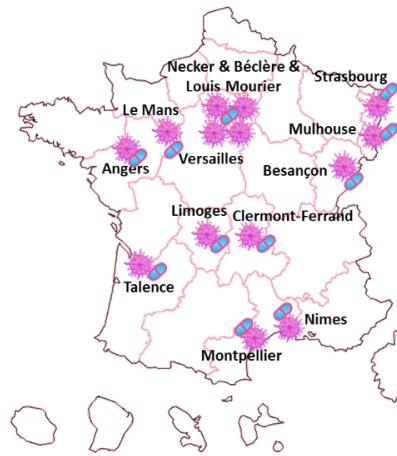


C) Etat du dépistage maternel de l'infection congénitale à CMV en France en 2023

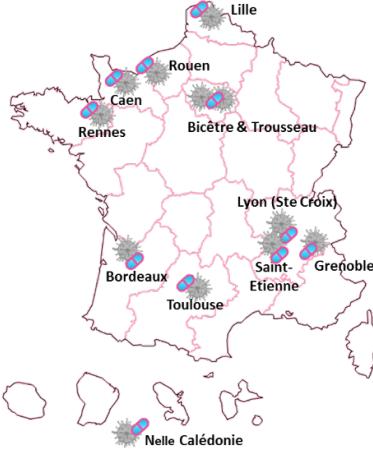
Une enquête a été menée par le Laboratoire CNR en octobre 2023 sur le dépistage de l'infection à CMV en France, dont les résultats ont été présentés au congrès de Naples sur le CMV congénital. 36 centres ont répondu à l'enquête, 15 déclarent dépister systématiquement l'infection à CMV pendant la grossesse.

Ci-dessous le recensement des centres qui dépistent pendant la grossesse et l'impact potentiel sur la prise en charge thérapeutique des primo-infections :

**Centres qui dépistent systématiquement l'infection maternelle à CMV en 2023
(n=15, tous traitent)**



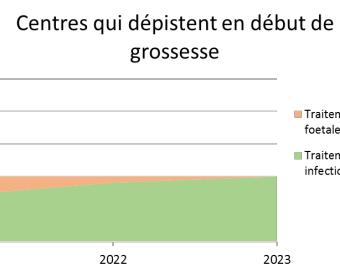
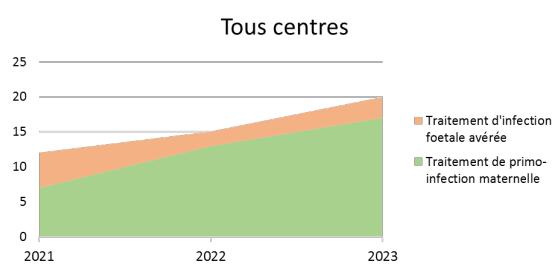
Centres qui traitent l'infection maternelle à CMV en 2023 mais qui ne dépistent pas (n=12)



Centres qui ne dépistent pas ET ne traitent pas l'infection maternelle à CMV en 2023 (n=9)



Evolution du traitement antiviral maternel des infections en début de grossesse depuis 2021 et raison du traitement



Malgré l'apparition régulière de cas graves de CMV congénital, l'augmentation du nombre de traitements maternels (particulièrement dans les centres ne dépistant pas) et la diminution du nombre d'interruptions médicales de grossesse sont encourageantes. La publication de recommandations dans la littérature scientifique et sur le site internet du CNR Herpesvirus pourrait être un facteur de cette amélioration. Des progrès doivent encore être réalisés grâce à la communication et à un dépistage mieux organisé.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

3.3.1 Résistance du CMV aux antiviraux

FAITS MARQUANTS :

Mise en route de la base de données interactives pour l'interprétation des génotypes de résistance et la déclaration des nouvelles mutations.

Nouvelle catégorisation des mutations

Recommandation de dosage des antiviraux pour adaptation de dose en cas de mutations de sensibilité diminuée ou de bas niveau de résistance, notamment pour ganciclovir et pour letermovir et maribavir, non disponible pour le foscarnet.

Définition de l'échantillon de souches testées et définitions utilisées pour exprimer la résistance

Les échantillons et les souches virales sont adressés au CNR soit directement, après accord téléphonique sur demande du clinicien ou du virologue, soit dans le cadre des cohortes, ou à la demande de l'ANSM, pour vérification du génotype de résistance avant délivrance de l'ATU pour Cytotect CP®, letermovir ou maribavir. En 2019 et 2020 aucune cohorte n'étant active les recherches de résistance relèvent des demandes spontanées ou de l'ANSM. En 2021-2022 les déclarations relèvent des laboratoires et de la cohorte NaViRe initiée par le CNR pour la surveillance des nouveaux antiviraux en greffe de cellules souches hématopoïétiques.

Critères de recherche de résistance aux antiviraux (ci-dessous Table 2, Chemaly et al., CID 2018) : modifiés en 2023 dans le cadre de la révision des recommandations pour les essais cliniques dans le cadre du CMV (TAVI Forum 2023, à paraître dans CID) à laquelle a participé le laboratoire CNR en fusionnant « refractory et probable refractory ». A noter : Les critères internationaux de la conférence de consensus de 2018 (Kotton et al., Transplantation 2018) incluent la notion d'exposition dans les critères pour la recherche de résistance au ganciclovir : « Plus de six semaines d'exposition au ganciclovir et échec thérapeutique après plus de deux semaines de traitement à dose curative ». Ceci permet, en cas d'exposition préalable par prophylaxie, de réaliser la recherche de résistance une semaine plus tôt. Cependant, la recommandation du CNR est de répéter le génotype de résistance à une semaine de distance en l'absence d'amélioration ou en cas d'aggravation clinique ou virologique.

Table 2. Summary of the Definitions of Refractory Cytomegalovirus Infection and Disease and Antiviral Drug Resistance for Use in Clinical Trials

Term	Definition
Refractory CMV infection	CMV viremia that increases ^a after at least 2 wk of appropriately dosed antiviral therapy
Probable refractory CMV infection	Persistent viral load ^b after at least 2 wk of appropriately dosed antiviral therapy
Refractory CMV end-organ disease	Worsening in signs and symptoms or progression into end-organ disease after at least 2 wk of appropriately dosed antiviral therapy
Probable refractory CMV end-organ disease	Lack of improvement in signs and symptoms after at least 2 wk of appropriately dosed antiviral drugs
Antiviral drug resistance	Viral genetic alteration that decreases susceptibility to one or more antiviral drugs ^c

Abbreviation: CMV, cytomegalovirus.

^aMore than 1 log₁₀ increase in CMV DNA levels in blood or serum and determined by log₁₀ change from the peak viral load within the first week to the peak viral load at ≥2 weeks as measured in the same laboratory with the same assay.

^bCMV viral load at the same level or higher than the peak viral load within 1 week but <1 log₁₀ increase in CMV DNA titers done in the same laboratory and with the same assay.

^cKnown examples involve genes involved in antiviral drug anabolism (eg, UL97-mediated phosphorylation of ganciclovir), the antiviral drug target (eg, UL54, UL97, UL56/89/51), or compensation for antiviral inhibition of biological function (eg, UL27).

Définition de la résistance génotypique : Présence d'une mutation dont le rôle dans la résistance a été démontré soit par transfert de marqueur soit par production d'un virus recombinant portant la mutation. Les mutations sont

classées selon l'augmentation de la Concentration Inhibitrice 50%(CI50) par rapport à la souche de référence testée par l'antivirogramme selon les techniques de référence du CNR (inhibition de la formation de foyers ou inhibition de la production d'ADN viral (cf rapport 2010) ou de la publication.

Nous avons adapté à partir de la littérature et de nos données une BASE DE DONNEES INTERACTIVE désormais disponible sur le site du CNR

Cnr- herpesvirus.fr/CMV/Expertise/base de données résistance.

Dernière mise à jour mars 2024.

Définition de la résistance phénotypique et poids des mutations : Une nouvelle catégorie de mutations de résistance : mutations de sensibilité diminuée correspondant à des augmentations de CI50<1,9 a été créée à la suite de la reclassification internationale proposée par S Chou en 2021. Les autres mutations de résistance sont classées en bas niveau de résistance et haut niveau de résistance selon l'augmentation de CI50 (<3 bas niveau, possibilité d'augmenter la dose de ganciclovir après dosage plasmatique, idem pour le maribavir, à discuter pour le foscarnet; >3 haut niveau de résistance changement de molécule antivirale conseillée.

Recommandations du CNR pour les laboratoires du réseau :

✓ **Génotype :**

- Séquençage Sanger des gènes cibles *UL97+UL54 +/- UL56-89*-et *UL51* dans leur totalité.
- Si le laboratoire ne réalise pas toutes ces séquences il peut en adresser une partie au laboratoire CNR.
- Nécessité d'informations cliniques sur le traitement reçu et d'une charge virale suffisante (>1000UI/mL)
- Sensibilité : 17-20%, résultats dans les 3-5 jours.
- Applicable à tout prélèvement de charge virale suffisante (associer sang et localisation si maladie à CMV)
- S'ils ne sont pas adressés au Laboratoire CNR, il est indispensable d'adresser les séquençages à des Laboratoires de référence participant à un contrôle annuel de qualité (du CNR ou du QCMD).
- Ces laboratoires s'appuient sur l'expertise du CNR (appel téléphonique ou base de données du CNR) pour l'interprétation des mutations et pour le conseil aux cliniciens en raison de la difficulté d'interprétation liée à certaines mutations
- Envoyer les nouvelles mutations au Laboratoire CNR pour expertise et phénotypage sur bacmides recombinants.

• **Déclarer les résistances aux antiviraux au Laboratoire CNR**

- **Déclaration possible sur le site de la base de données des nouvelles mutations avec demande de réalisation d'un phénotype sur virus recombinant**
- **Et toute anomalie constatée dans la base de données.**

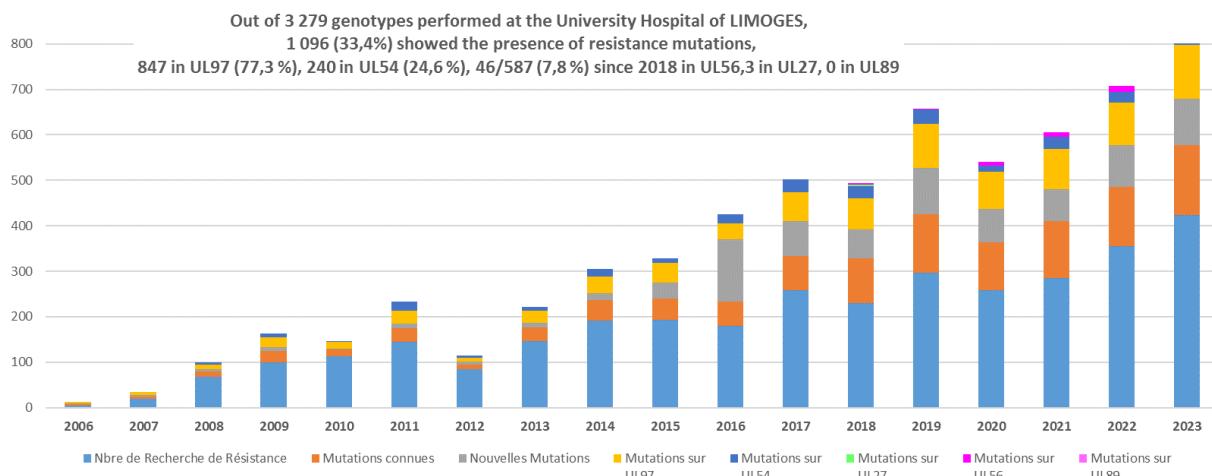
✓ **Apport du NGS ?**

- La sensibilité est élevée (2-5%) mais coûteuse et le risque d'émergence de mutants de faible fréquence reste controversé.
- Utilité de l'analyse rétrospective pour la cinétique de l'émergence précoce des mutants avec envoi au CNR des prélèvements
- Place dans le diagnostic précoce au cas par cas
- Nécessité de contrôles, de normalisation et de validation de la reproductibilité des résultats (cf projet du laboratoire 2023)

Evolution des demandes et des résistances :

La surveillance des résistances est en place depuis 2006. Le nombre total de génotypes effectués est de 2 928 à Limoges depuis 2006.

Evolution globale des demandes de génotype de résistance et des mutations recherchées depuis la création du CNR en 2006, données cumulées du site de Limoges



Résistance au letermovir

Le letermovir a désormais l'AMM en prophylaxie des infections à CMV post allogreffe de cellules souches chez les patients à haut risque CMV (CMV-séropositifs avant greffe). La prévalence et les facteurs de risque d'émergence de résistance sont importants à connaître car les résistances au letermovir sont le plus souvent des résistances « absolues » supprimant toute efficacité de la molécule.

Bilan des résistances en 2023 : voir carte

Résistance au maribavir

Le maribavir est un inhibiteur de la kinase UL97 du CMV, peu毒ique et présentant d'exceptionnelles résistances croisées, uniquement avec le ganciclovir. Il a obtenu une AMM en traitement des infections à CMV réfractaires résistantes ou non aux inhibiteurs de polymérase ou au letermovir.

Bilan des résistances en 2023 : voir carte

Surveillance des résistances du CMV aux antiviraux pour l'année 2023

En 2023 les laboratoires du réseau ont reçu 528 demandes de génotype de résistance pour 435 patients parmi lesquels 118 étaient porteurs d'une infection à CMV résistante.

Répartition des demandes :

2023	Nombre de patients	Nombre de recherche de résistance CMV	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Nombre de patients Non Résistants	Mutations sur UL97	Nouvelles mutations sur UL97	Mutations sur ULS4	Nouvelles mutations sur ULS4	Mutations sur UL27	Nouvelles mutations sur UL27	Mutations sur UL56	Nouvelles mutations sur UL56	Mutations sur UL89	Nouvelles mutations sur UL89	nombre de quantiférons	nombre de quantiférons liés à une RR
LIMOGES	350	423	83	164	207	119	25	26	66	0	3	10	7	0	0	129	35
LA PITIE	80	95	31	37	64	21	24	11	31	0	0	5	2	0	1	0	0
SAINT LOUIS	<i>Données non communiquées</i>																
NANTES	<i>Données non communiquées</i>																
RENNES	5	10	4	5	1	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	435	528	118	206	272	144	49	38	97	0	3	15	9	0	1	129	35

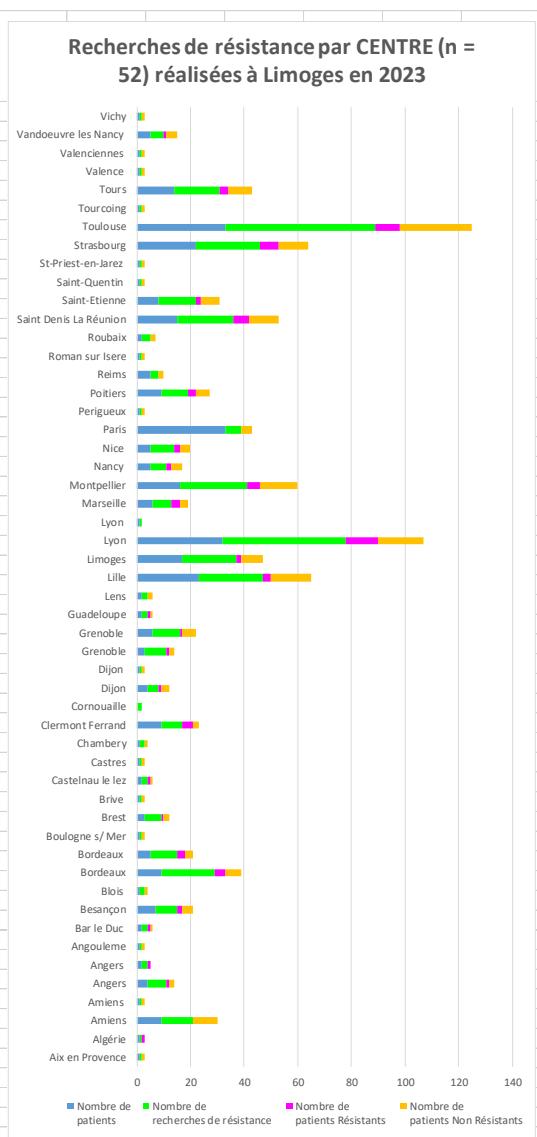
35 patients ont bénéficié d'un test Quantiféron™ CMV associé à leur recherche de résistance

Répartition des recherches par centre :

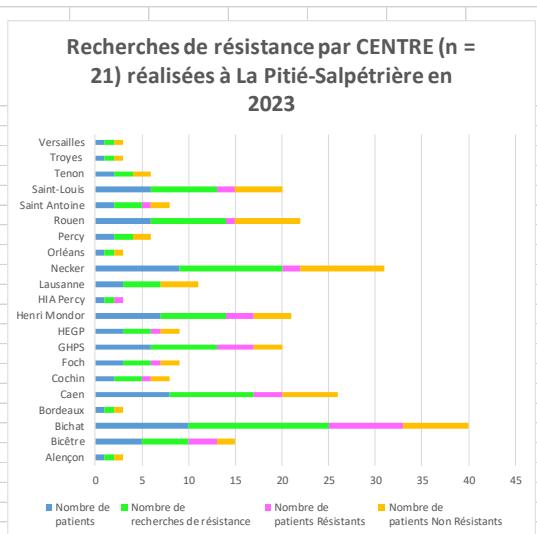
Les laboratoires participant au réseau coordonné par le CNR de Limoges n'ont pas changé en 2023 : Pitié-Salpêtrière, Saint Louis, Nantes, et Rennes. (En 2023 nous avons accompagné le laboratoire de Grenoble pour la mise en place des recherches de résistance mais réalisé les tests à Limoges)

A signaler : environ 10% (78) demandes ininterprétables du fait d'une charge virale trop faible pour l'amplification des gènes entiers. Pour répondre à cette problématique, nous avons testé en 2023 plusieurs méthodes d'extraction et certaines fragmentent le génome, compromettant l'amplification de gènes de grande taille >2kb. Sont validés Emag/EasyMag bioMérieux, Qiagen DNA en minicolonnes et Samag sang total (Sacace). Non validé : Elitech BeGenius.

Centres de Limoges	Nombre de patients	Nombre de recherches de résistance	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Nombre de patients Non Résistants
Aix en Provence	1	1		0	1
Algérie	1	1	1	1	0
Amiens	9	12		0	9
Amiens	1	1		0	1
Angers	4	7	1	5	2
Angers	2	2	1	2	0
Angoulême	1	1		0	1
Bar le Duc	2	2	1	1	1
Besançon	7	8	2	4	4
Blois	1	2		0	1
Bordeaux	9	20	4	16	6
Bordeaux	5	10	3	6	3
Boulogne s/ Mer	1	1		0	1
Brest	3	6	1	2	2
Brive	1	1		0	1
Castelnau le lez	2	2	1	1	1
Castres	1	1		0	1
Chambery	1	2		0	1
Clermont Ferrand	9	8	4	4	2
Cornouaille		2		0	
Dijon	4	4	1	1	3
Dijon	1	1		0	1
Grenoble	3	8	1	3	2
Grenoble	6	10	1	4	5
Guadeloupe	2	2	1	2	1
Lens	2	2		0	2
Lille	23	24	3	3	15
Limoges	17	20	2	6	8
Lyon	32	46	12	23	17
Lyon	1	1		0	
Marseille	6	7	3	3	3
Montpellier	16	25	5	5	14
Nancy	5	6	2	2	4
Nice	5	9	2	4	4
Paris	33	6		0	4
Perigueux	1	1		0	1
Poitiers	9	10	3	4	5
Reims	5	3		0	2
Roman sur Isere	1	1		0	1
Roubaix	2	3		0	2
Saint Denis La Réunion	15	21	6	12	11
Saint-Etienne	8	14	2	5	7
Saint-Quentin	1	1		0	1
St-Priest-en-Jarez	1	1		0	1
Strasbourg	22	24	7	16	11
Toulouse	33	56	9	23	27
Tourcoing	1	1		0	1
Tours	14	17	3	4	9
Valence	1	1		0	1
Valenciennes	1	1		0	1
Vandoeuvre les Nancy	5	5	1	2	4
Vichy	1	1		0	1
Total général	338	422	83	164	207



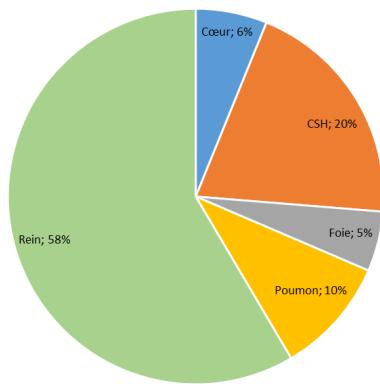
Centres de La Pitié Salpêtrière	Nombre de patients	Nombre de recherches de résistance	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Nombre de patients Non Résistants
Alençon	1	1			1
Bicêtre	5	5	3	3	2
Bichat	10	15	8	10	7
Bordeaux	1	1			1
Caen	8	9	3	4	6
Cochin	2	3	1	1	2
Foch	3	3	1	1	2
GHPS	6	7	4	4	3
HEGP	3	3	1	2	2
Henri Mondor	7	7	3	4	4
HIA Percy	1	1	1	2	
Lausanne	3	4			4
Necker	9	11	2	2	9
Orléans	1	1			1
Percy	2	2			2
Rouen	6	8	1	1	7
Saint Antoine	2	3	1	1	2
Saint-Louis	6	7	2	2	5
Tenon	2	2			2
Troyes	1	1			1
Versailles	1	1			1
Total général	80	95	31	37	64



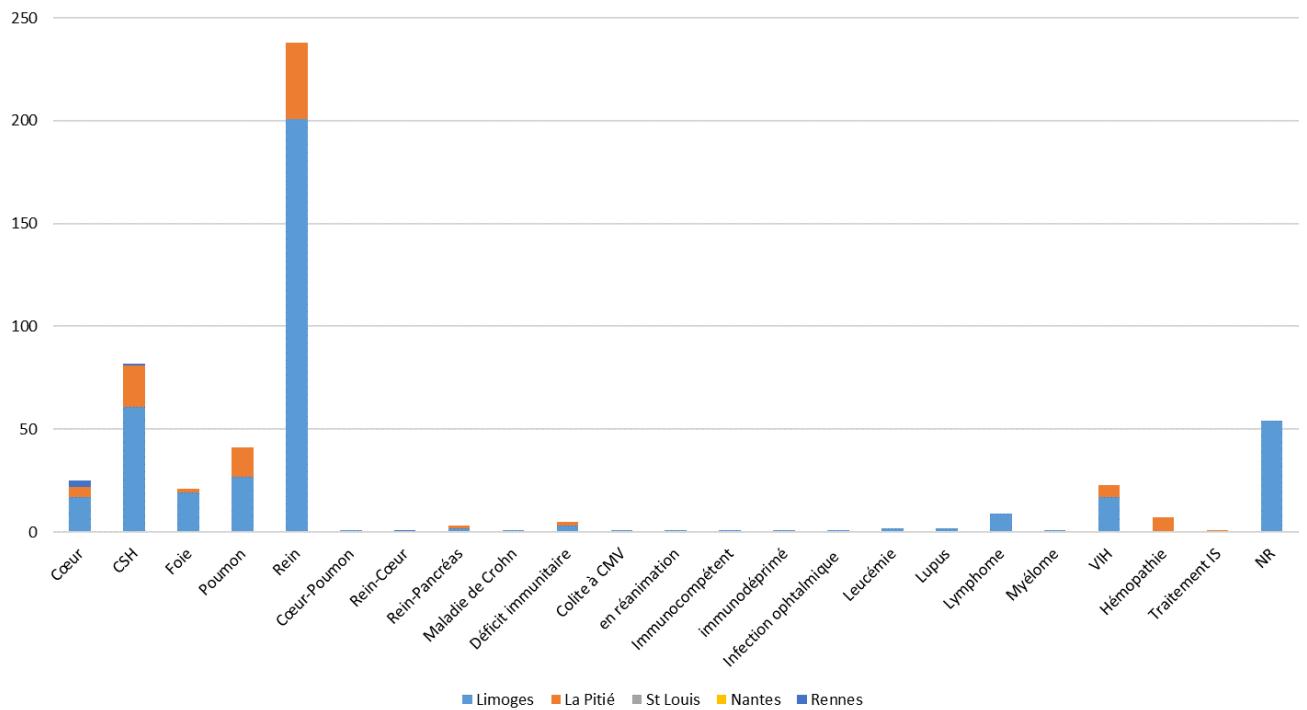
Centre de Rennes	Nombre de patients	Nombre de recherches de résistance	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Nombre de patients Non Résistants
Rennes	5	10	4	5	1



Recherches de résistance par SOT et CSH,
réalisées en 2023, tous centres cofondus



Recherches de résistance par SOT, CSH et maladies, réalisées en 2023, tous centres cofondus

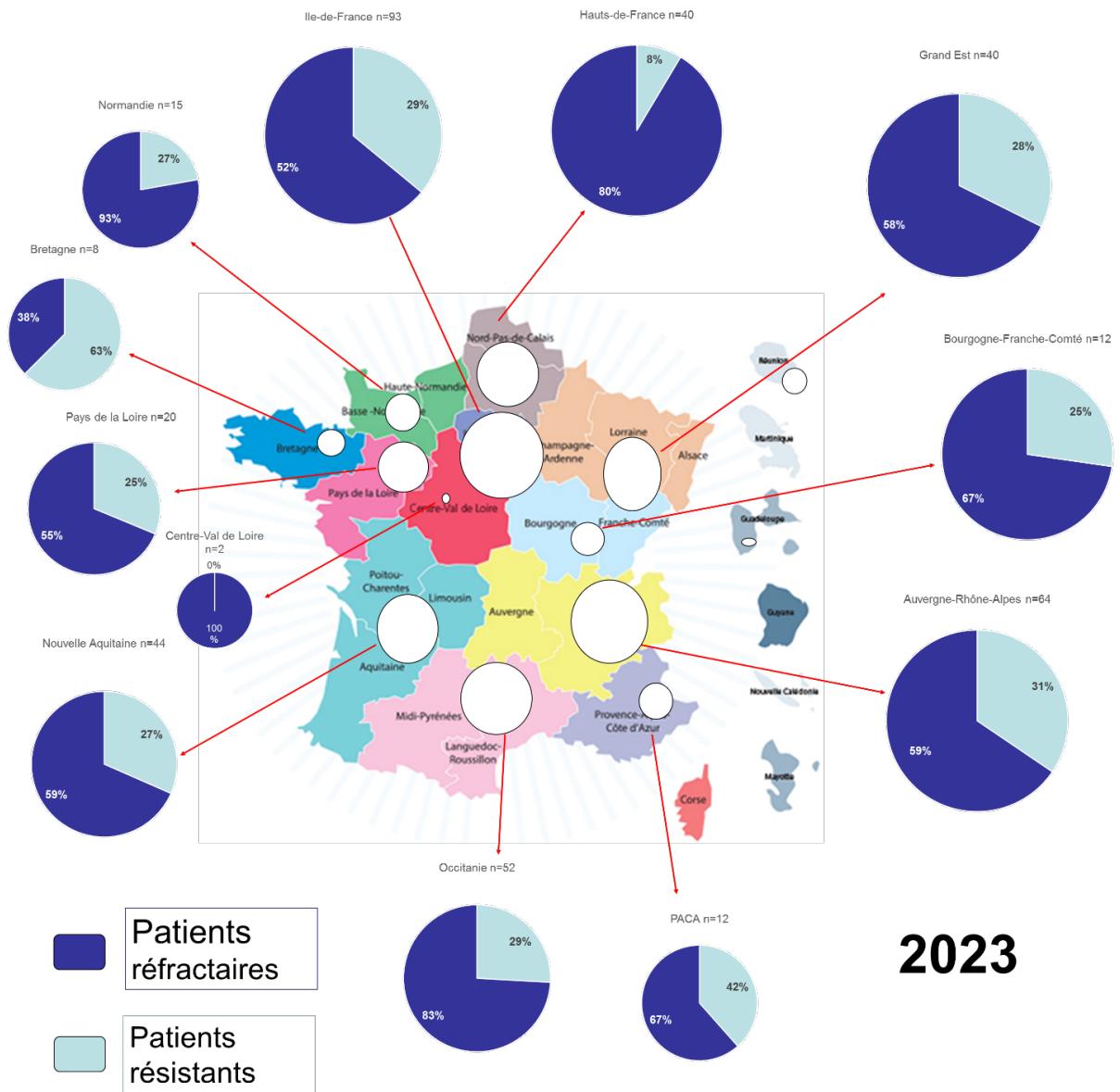


(Pas de données communiquées pour Nantes et Saint Louis en 2023)

Les greffes de rein demeurent les plus pourvoyeuses d'infections à CMV réfractaires au traitement et nécessitant une recherche de mutation de résistance, quel que soit le centre.

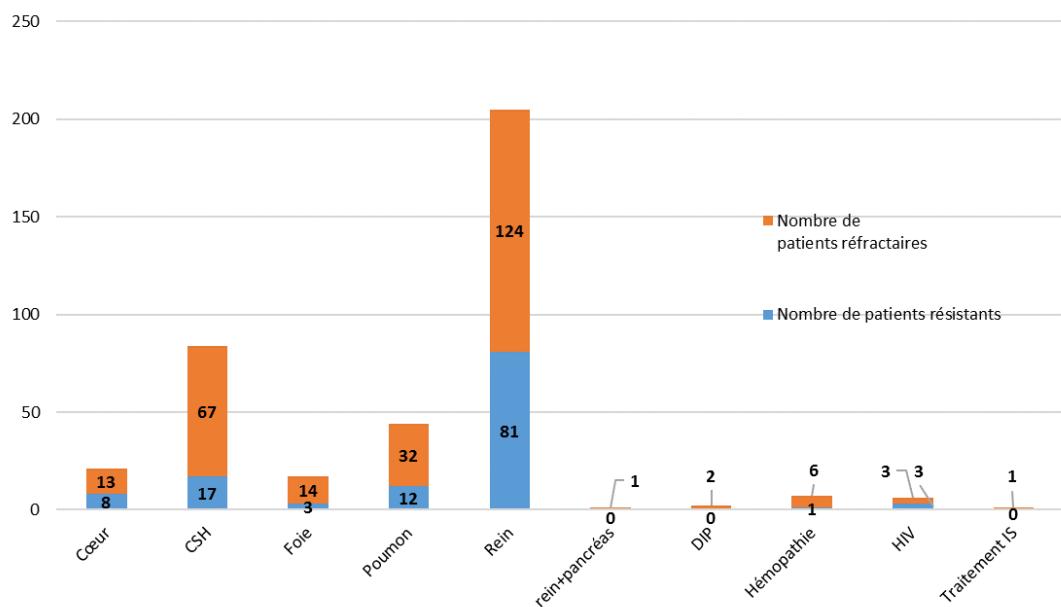
On retrouve près de 28% de patients avec une mutation de résistance parmi tous les patients réfractaires au traitement (206 patients pour 423 patients testés suite à une inefficacité du traitement antiviral).

La proportion de patients résistants parmi les patients non répondeurs au traitement analysée sur l'ensemble du réseau est stable (proche d'1/3) avec des variations selon les régions qui reflètent probablement des disparités de prescription du génotype. Pas d'évolution notable par rapport à 2022 (cf carte de France ci-dessous)



Détail des proportions de résistants parmi les réfractaires par pathologie en 2023 :

Proportion de patients résistants et réfractaires par type de pathologie



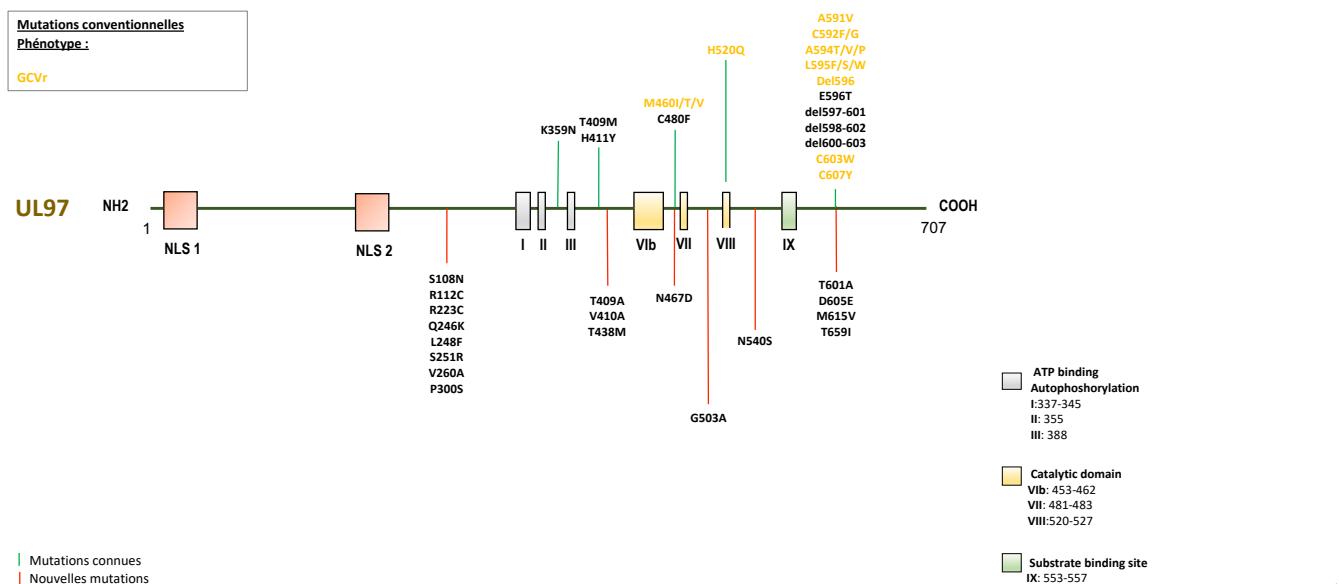
Distribution des mutations dans les différents gènes concernés sur la période 2023 :

UL97 : résistance ganciclovir et maribavir / UL27 : résistance bas niveau maribavir

UL54 : résistance ganciclovir, cidofovir, foscarnet

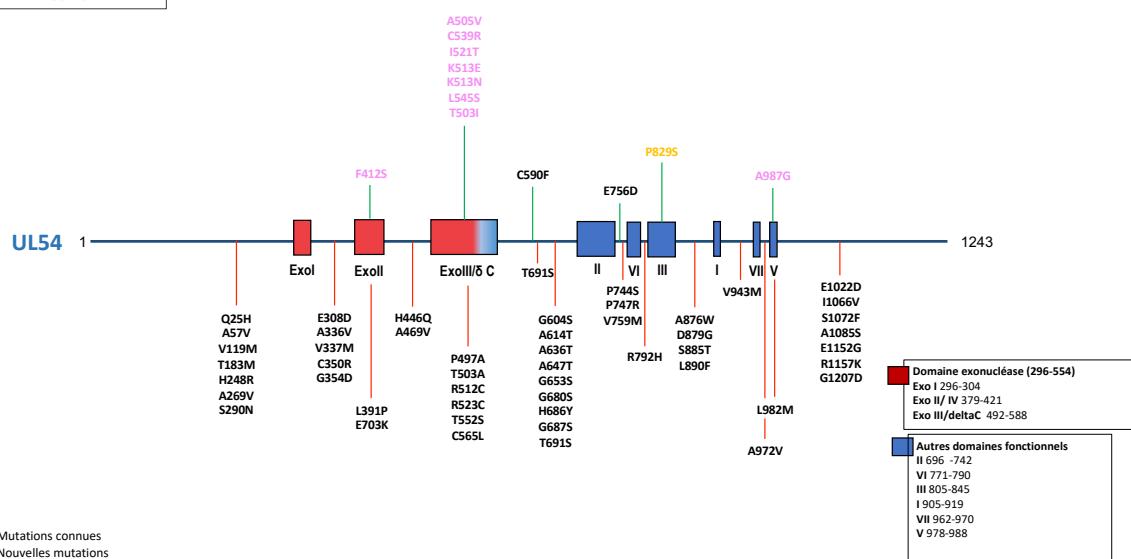
UL56, UL89, UL51 : résistance letermovir

Cartographie des mutations *UL97* présentes chez les patients 2023

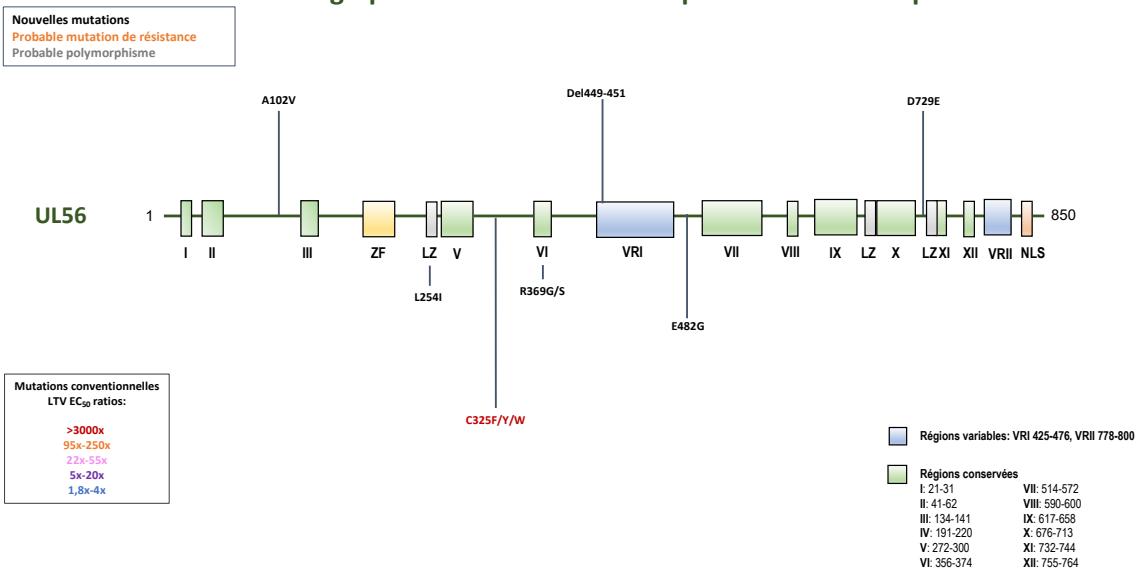


Mutations conventionnelles
Phénotype:
GCVr GCVr CDVr

Cartographie des mutations UL54 présentes chez les patients 2023



Cartographie des mutations UL56 présentes chez les patients 2023



Pas de mutation connue ou nouvelle détectée en 2023 dans UL51, UL89 et UL27.

Analyse des nouvelles mutations en 2023

Les mutations nouvelles identifiées au laboratoire CNR ou déclarées par les autres laboratoires sont analysées au fil de l'eau en utilisant la technologie des Bacmides HCMV recombinants. En 2023, plus de 20 constructions de virus recombinants ont été réalisées : 9 de ces mutations sont caractérisées ou en cours de caractérisation phénotypique (voir tableau ci-dessous) et aucune n'impacte la résistance aux antiviraux

Gène (Région)	Description	Profil de résistance aux antiviraux	Impact sur le fitness
UL54 (domaine ExoI)	A402V	Pas de résistance	Augmentation
UL54	A457V	Pas de résistance	Diminution
UL54 (domaine ExoIII)	Q534K	En cours	Pas d'impact
UL54	T552S	Pas de résistance	Diminution
UL54	A636T	Pas de résistance	Augmentation
UL54	P648L	Pas de résistance	Pas d'impact
UL54 (domain III)	R839H	En cours	Diminution
UL54	A939T	Pas de résistance	Pas d'impact
UL56	S262C	Pas de résistance	Diminution

3.3.2 Surveillance de la résistance des HSV-1 et HSV-2 aux antiviraux en 2023

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Surveillance de la résistance des HSV-1 et HSV-2 aux antiviraux en 2023

En 2023, les centres de la Pitié-Salpêtrière, Limoges, Saint-Louis et Lyon ont effectué une recherche de résistance des HSV aux antiviraux sur un total de 625 prélèvements biologiques provenant de 498 patients distincts. La répartition entre les 4 centres était la suivante :

	Pitié-Salpêtrière	Limoges	Lyon	Saint-Louis	Total
Nombre de prélèvements biologiques	115	21	465	24	625
Nombre de patients	91	16	376	15	498

Les caractéristiques des patients pour lesquels une recherche de résistance génotypique des HSV aux antiviraux a été effectuée étaient les suivantes :

Caractéristiques	
Nombre de prélèvements biologiques¹	625
Nombre de patients	498
Sexe	
Homme	231
Femme	267
Age Médiane (années) [intervalle]	45 [0 – 99]
Origine géographique	
Paris / Ile-de-France	56
Province	439
Europe	3
Immunodépression	
Aucune	178
Greffé de CSH	36
Greffé d'organe solide	12
Infection par le HIV	32
Hémopathie	66
Cancer solide	11
Pathologie auto-immune	4
Déficit immunitaire primitif	3
Autre (réanimation, nouveau-né)	59
Non renseigné	97
Prélèvements biologiques	
Prélèvements cutanéomuqueux ²	308
Prélèvements anogénitaux	192
Prélèvements de cornée / larmes	43
Sang	14
Liquide cérébrospinal	5
Prélèvements respiratoires	41
Humeurs oculaires	16
Biopsies	6

Espèce de HSV	
HSV-1	472
HSV-2	153
Traitements antiviraux ³	
(V)ACV	119
(V)ACV + CDV	3
(V)ACV + FCV	3
(V)ACV + FOS	16
(V)ACV + GCV	1
(V)ACV + PTV	1
(V)ACV + FOS + AMNV	1
(V)ACV + FOS + CDV	2
(V)ACV + FCV + GCV	1
AMNV	1
FOS	2
GCV	1
FCV	2
Non renseigné ⁴	472

¹Pour certains patients, des prélèvements itératifs et/ou effectués dans différents sites anatomiques ont été analysés ;

²Hors prélèvement anogénital ; ³Traitements antiviraux reçus par le patient pour chaque prélèvement biologique analysé au laboratoire ; ⁴les traitements antiviraux n'étaient pas renseignés pour le centre de Lyon.

AMNV : aménamévir ; CSH : cellules souches hématopoïétiques ; CDV : cidofovir ; FCV : famciclovir ; FOS : foscarnet ; GCV : ganciclovir ; HIV : virus de l'immunodéficience humaine ; HSV : virus herpes simplex ; PTV : pritélivir ; (V)ACV : (val)aciclovir.

En 2023, une résistance génotypique des HSV aux antiviraux a été identifiée dans 104 (16,6 %) prélèvements biologiques différents provenant de 65 (13,1 %) patients distincts.

Le bilan de la prévalence de la résistance des **HSV-1** et **HSV-2** aux antiviraux est le suivant :

	HSV	HSV-1	HSV-2
Nombre de patients	498	382	116
Sensibilité aux antiviraux	433 (86,9 %)	337 (88,2 %)	96 (82,8%)
Résistance aux antiviraux	65 (13,1 %)	45 (11,8 %)	20 (17,2%)
Résistance à l'ACV	57 (87,7 %)	41 (91,1 %)	16 (80,0 %)
Résistance à l'ACV et au FOS	7 (10,8 %)	3 (6,7 %)	4 (20,0 %)
Résistance à l'ACV, au FOS et au CDV	1 (1,5 %)	1 (2,2 %)	0 (0,0 %)

En 2023, la prévalence de la résistance des HSV aux antiviraux était de 13,1 % : 11,8 % pour les HSV-1 et 17,2 % pour les HSV-2. La résistance des HSV à l'aciclovir était très majoritairement représentée (87,7 %), suivie de la résistance croisée à l'aciclovir et au foscarnet (10,8 %) et de la résistance croisée à l'aciclovir, au foscarnet et au cidofovir (1,5 %). Ces prévalences sont plus faibles que celles trouvées en 2022 : 59,5 % pour l'ensemble des HSV (61,3 % pour les HSV-1 et 56,0 % pour les HSV-2). Cela est dû au fait que les recherches de résistance des HSV aux antiviraux du centre de Lyon ont été intégrées cette année au calcul. Dans ce centre, les recherches de résistance des HSV aux antiviraux ne sont pas effectuées pour les mêmes indications que les 3 autres centres. Pour les centres Pitié-Salpêtrière, Limoges et Saint-Louis, la recherche de résistance est effectuée en cas d'infection réfractaire, c'est-à-dire d'absence de réponse au traitement antiviral après 7 à 10 jours d'instauration du traitement antiviral. A Lyon, la recherche de résistance des HSV aux antiviraux est non seulement effectuée en cas d'infection réfractaire, mais aussi pour tous les HSV isolés chez les patients greffés de CSH. Ainsi, la prévalence de 13,1 % calculée en 2023 sont plus représentative de la prévalence globale de la résistance des HSV aux antiviraux chez tous les patients avec une infection due aux HSV, et non pas seulement parmi les patients avec une infection due aux HSV réfractaire aux traitements antiviraux.

Les différentes mutations de résistance aux antiviraux identifiées dans les 104 prélèvements biologiques en 2023 étaient les suivantes :

Mutations de résistance aux antiviraux	Nombre (%)
Résistance à l'ACV	93
Codon stop dans la TK	24 (25,8%)
Changement d'acide aminé dans la TK	39 (41,9 %)
<i>Frameshift</i> ¹ dans la TK	25 (26,9 %)
Changement d'acide aminé et <i>frameshift</i> dans la TK	1 (1,1 %)
Codon stop et <i>frameshift</i> dans la TK	1 (1,1 %)
Changement d'acide aminé dans l'ADN polymérase	2 (2,2 %)
Changement d'acide aminé dans la TK et dans l'ADN polymérase	1 (1,1 %)
Résistance à l'ACV et au FOS	9
Changement d'acide aminé dans l'ADN polymérase	9 (100 %)
Résistance à l'ACV, au FOS et au CDV	2
Changement d'acide aminé dans la TK et dans l'ADN polymérase	2 (100 %)

¹Décalage du cadre de lecture

Les mutations de résistance des **HSV** à l'aciclovir sont majoritairement des changements d'acides aminés (41,9 %), suivis des *frameshifts* (26,9 %) et des codons stop (25,8 %).

A la Pitié-Salpêtrière, nous avons effectué la recherche de la résistance du **HSV-2** au pritélivir et à l'aménamévir par séquençage des gènes UL5 et UL52 codant le complexe hélicase-primase sur 3 prélèvements biologiques provenant de 2 patients distincts qui ont reçu ces nouveaux traitements antiviraux en autorisation d'accès compassionnel pour le traitement de lésions génitales herpétiques dues au **HSV-2** récurrentes et résistantes à l'aciclovir. Aucune mutation de résistance n'a été détectée.

En 2023, nous avons pu identifier à la Pitié-Salpêtrière le rôle de 18 nouvelles mutations non décrites à ce jour par technique phénotypique (antivirogramme). Cette technique de 2^e intention effectuée après l'identification de mutations non connues par séquençage a été remise en place au laboratoire à la fin de 2022 (cette activité avait dû être interrompue pendant la période « COVID-19 »).

Enzyme virale	Changement d'acide aminé	Rôle
Thymidine kinase HSV-1	L50P	Résistance à l'ACV
	Q67H	Polymorphisme naturel
	E83A	Résistance à l'ACV
	Q109K	Polymorphisme naturel
	M179L	Polymorphisme naturel
	P359S	Polymorphisme naturel
	E374Stop	Polymorphisme naturel
Thymidine kinase HSV-2	L179P	Résistance à l'ACV
ADN polymérase HSV-1	T59P	Polymorphisme naturel
	G121C	Polymorphisme naturel
	P142H	Polymorphisme naturel
	L179P	Résistance à l'ACV
	E649D	Polymorphisme naturel
	del PEGARE 683-688	Polymorphisme naturel
	A719V	Résistance à l'ACV et au FOS
ADN polymérase HSV-2	A251V	Polymorphisme naturel
	E422A	Polymorphisme naturel

del : délétion ; HSV : virus herpes simplex.

Surveillance de la résistance du VZV aux antiviraux en 2023

En 2023, les centre de la Pitié-Salpêtrière et de Lyon ont effectué une recherche de résistance du VZV aux antiviraux sur un total de 33 prélèvements biologiques provenant de 14 patients distincts. Le centre de Limoges n'a pas reçu de prélèvements. La répartition entre les 2 centres était la suivante :

	Pitié-Salpêtrière	Lyon	Total
Nombre de prélèvements biologiques	13	20	33
Nombre de patients	8	6	14

Les caractéristiques des patients pour lesquels une recherche de résistance génotypique du VZV aux antiviraux a été effectuée étaient les suivantes :

Caractéristiques	
Nombre de prélèvements biologiques¹	33
Nombre de patients	14
Sexe	
Homme	6
Femme	8
Age Médiane (années) [intervalle]	70,5 [2 – 96]
Origine géographique	
Paris / Ile-de-France	3
Province	10
Outre-Mer	1
Immunodépression	
Aucune	8
Greffé de CSH	3
Déficit immunitaire primitif	1
Hémopathie	1
Infection par le HIV	1
Prélèvements biologiques²	
Prélèvement cutanéomuqueux	5
Sang	4
Liquide cérebrospinal	2
Humeur oculaire	17
Prélèvements de cornée / larmes	5
Traitements antiviraux³	
(V)ACV	10
FCV	1
FCV + FOS	1
Non renseigné	21

¹Pour certains patients, des prélèvements itératifs et/ou effectués dans différents sites anatomiques ont été analysés ; ²Hors prélèvement anogénitaux. ³Traitements antiviraux reçus par le patient pour chaque prélèvement biologique analysé au laboratoire.

CSH : cellules souches hématopoïétiques ; FCV : famciclovir ; FOS : foscarnet ; HIV : virus de l'immunodéficience humaine ; (V)ACV : (val)aciclovir.

Une résistance génotypique du VZV aux antiviraux a été identifiée dans un prélèvement biologique (3,0%) provenant d'un patient (7,1%).

Au total, parmi l'ensemble des infections dues au VZV réfractaires aux traitements antiviraux (pour lesquelles une recherche de résistance a été demandée), la prévalence de la résistance du VZV aux antiviraux en 2023 était de 7,1%. La prévalence de la résistance du VZV aux antiviraux en 2023 était plus faible que celle calculée en 2022 (14,3%).

Le patient chez lequel une résistance du VZV aux antiviraux a été identifié était un jeune homme âgé de 19 ans atteint d'un déficit immunitaire primitif (syndrome de Chédiak-Higashi) et souffrant d'un zona disséminé. La résistance du VZV concernait l'aciclovir seul. La résistance du VZV à l'aciclovir était due à l'apparition d'un codon stop en position 163 de la thymidine kinase ORF36 (A163Stop) due à la délétion de 2 nucléotides (del AT 376-377). Aucune mutation de résistance au foscarnet n'a été détectée au cours de l'année 2023.

Aucune recherche de résistance du VZV à l'aménamévir par séquençage des ORF55 et ORF6 codant le complexe hélicase-primase n'a été effectuée en 2023.

Enfin, 4 nouvelles mutations non décrites à ce jour ont été identifiées dans la thymidine kinase ORF36 (A259T et A278V) et dans l'ADN polymérase ORF28 (T219P et L1191I)

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

- Mise en réseau international des informations sur les résistances via le workshop CMV tous les deux ans et les groupes internationaux de consensus en transplantation, l'EBMT et l'ESOT.
- S Alain est expert auprès du QCMD depuis 2011 : poursuite de la contribution à l'analyse des résultats des contrôles de qualité internationaux (QCMD) sur les méthodes de charge virale CMV et les génotypes de résistance du CMV, permettant de générer des alertes en cas de défaut d'une ou plusieurs méthodes.
- S Alain participe à la Task Force ID de l'ESOT (European Society for Organ Transplantation) pour monter des registres internationaux de surveillance des infections virales en transplantation.
- Elle participe également aux guidelines internationales européennes (ESOT/ECIL) internationaux, ou nationaux (SF Pharmacologie) pour l'épidémiologie, la prise en charge du CMV et des traitement anti-CMV en tant qu'expert.
- Le CNR de Limoges a sollicité des experts internationaux de la résistance du CMV aux antiviraux en vue d'une validation et d'une utilisation internationale de notre base de données des mutations de résistance. L'ensemble des experts sollicités a répondu favorablement pour se rencontrer et travailler sur la base lors de réunions prévues au cours de l'année 2024.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le Dr David Boutolleau est expert auprès du QCMD pour la conception et l'analyse des résultats des contrôles de qualité pour la détection/quantification des génotypes des HSV et du VZV et pour les tests génotypiques de résistance des HSV aux antiviraux.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

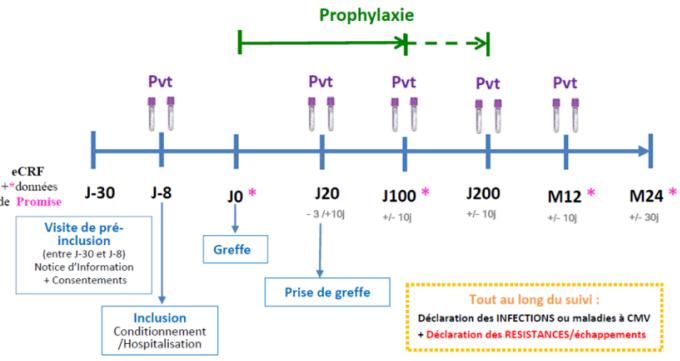
Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Infections à CMV et résistances en allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :

Etude de cohorte observationnelle NAVIRE (en cours) 400 patients receveurs de cellules souches hématopoïétiques inclus à partir de la greffe ce jour dans 14 centres : 399/400 inclus fin décembre 2023. Prolongation obtenue en 2024 pour 100 patients supplémentaires. (S Alain, investigator principal, P Turlure, coordination clinique)

Dans la suite de l'AMM du letermovir en 2019, cette nouvelle cohorte a été mise en place pour surveiller l'efficacité des nouveaux antiviraux en vie réelle en particulier le letermovir, en parallèle des inhibiteurs de polymérase et situer l'apport des tests de charge virale Torquatoenovirus (TTV) de façon prospective. L'objectif secondaire est également d'identifier les modalités d'utilisation des nouvelles molécules. Cette cohorte, en partenariat avec la SFGMTC est répertoriée dans Clinical trial (NCT04690933). Les premières inclusions ont eu lieu en juillet 2020. Les premiers résultats ont été présentés à l'EBMT en 2023. La prophylaxie par letermovir est largement utilisée dans notre cohorte (70,5% des patients tous receveurs CMV positif) avec une durée d'administration supérieure à 100 jours en moyenne (105j). Nous avons observé plusieurs blips et de faibles charges virales n'ayant pas justifié de traitement. Mais nous avons tout de même observé 16,7% d'infections avec des charges virales supérieures à 3 log/mL. Fin 2023, sur 399 patients inclus, 270 ont reçu au moins une dose de letermovir et parmi eux 3 ont développé une résistance soit une prévalence de la résistance de 0,75% (3/399) ou de 1,1% (3/270) chez les patients traités par letermovir.

Schéma de la Cohorte Navire :



Autres études en cours de surveillance des résistances au niveau national :

- Poursuite de l'analyse des cas d'ATU Maribavir depuis 2016. Une présentation des résultats a été réalisée au congrès de l'EBMT en 2023. Ces analyses descriptives ont montré que les patients traités au maribavir dans le cadre de l'ATU sont assez similaires à ceux inclus dans l'étude pivot (Avery et al, CID. 2022). Cependant, quelques différences ont été identifiées concernant le type de transplantation (transplantation d'organe solide 85% vs 60%), la présence d'une résistance aux agents conventionnels au départ (68% vs 52%), et les niveaux de DFGe < 30 ml/min/1,73m² (15% vs 0%). La durée moyenne du traitement dans l'ATU était alignée sur la durée recommandée dans les RCP (8 semaines de traitement). Aucun nouvel effet indésirable ou risque potentiel n'a été identifié, et les futures analyses d'efficacité devraient fournir des données supplémentaires sur le maribavir.
- Analyse rétrospective des cas de résistance au letermovir (LTV). Les résultats ont été présentés lors des JNI en juin 2023 et à l'ESCV en aout 2023. Nous avons observé que la résistance au LTV n'est pas plus fréquente que celle aux autres antiviraux dans le contexte d'utilisation actuel. Elle est peu fréquente en prophylaxie, et survient principalement lors de traitements curatifs ou de prophylaxie secondaire. En France, 5% de résistance en prophylaxie secondaire (Robin et al., 2020) et 1,1% en greffe de CSH (données de la cohorte NaVire CNR/SFGMTC) chez les patients traités. Elle peut être associée à une concentration plasmatique faible, d'où la nécessité de surveiller par dosage plasmatique et de passer en voie iv si malabsorption. **Un registre est désormais en place sous l'égide de la SPILF, du CNR, de la SFT et de la SFGMTC pour recenser l'utilisation hors AMM de cette molécule et ses conséquences. Une collection rétrospective de l'ensemble des cas de résistance au letermovir est en cours pour en identifier les caractéristiques communes (Thèse Solène Parabene, Infectiologue, au CNR).**

Evolution de la réponse immune anti-CMV, facteurs de risque d'infection

- CIRCLE : Sous étude de NaVire ; Etude de la reconstitution immunologique détaillée (globale, innée, cellulaire et humorale adaptative) sous letermovir pendant et après traitement prophylactique, chez 50 receveurs d'allogreffe de cellules souches (Etude menée en commun avec la SFGMTC dans les CHU de Limoges et Nancy). **Premiers patients inclus en juin 2022. A ce jour 24 patients sous letermovir sont inclus. Analyse en cours.**
- BioSuport : mise en place d'une avec cohorte avec collection biologique de patients receveurs d'organes rein, foie dans le cadre de la FHU SUPORT Tours Poitiers Limoges, puis Rennes, Orléans, Nantes et Angers (S Alain, coordonnateur) ouverte à partir de juillet 2020, 300 patients inclus sur 300 attendus (prolongation à 400 patients obtenue). Objectif principal : étudier les facteurs d'optimisation de la survie à long terme en transplantation d'organes : de la physiopathologie à la prise en charge optimisée des patients. Cohorte prospective, observationnelle, avec collection d'échantillons biologiques conservée en CRBs et disponible pour des projets scientifiques sous réserve d'accord du conseil scientifique. Sur cette cohorte nous étudions plus spécifiquement les facteurs viraux (CMV et TTV et transcriptomiques potentiellement associés à la réactivation des souches de CMV) en collaboration avec des virologues de la FHU.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le CNR Herpèsvirus de la Pitié-Salpêtrière a créé un groupe de travail comprenant 12 laboratoires de virologie concernant la mesure de la synthèse intrathécale (SIT) et de la synthèse intraoculaire (SIO) des anticorps antiviraux. La composition de ce groupe de travail est la suivante :

Hôpital	Biogliste
AP-HP PITIE-SALPETRIERE	David Boutolleau
AP-HP COCHIN	Anne-Sophie L'Honneur
AP-HP PAUL BROUSSE	Christelle Vauloup-Fellous
QUINZE-VINGTS	Alfred KOBAL
BORDEAUX	Sonia Burrel
CAEN	Julia Dina, Astrid Vabret
MONTPELLIER	Vincent Foulongne
RENNES	Vincent Thibault, Claire Grolhier
STRASBOURG	Aurélie Velay, Marie-Josée Wendling
LIMOGES	Sébastien Hantz
GRENOBLE	Raphaële Germi
MARSEILLE	Christine Zandotti, Laetitia Ninove

Il s'agit notamment d'harmoniser les méthodes de calcul et les interprétations des différents paramètres : intégrité de la barrière hémato-encéphalique ou hémato-oculaire, synthèse intrathécale ou intra-oculaire d'anticorps.

4. Alertes

Aucun évènement issu de la surveillance du CNR Herpesvirus effectuée en 2023 n'a conduit à une alerte de Santé Publique France ou de l'ANSM.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Infection congénitale à CMV :

L'activité de conseil pour la prise en charge de l'infection congénitale à CMV est très active : les membres du CNR sont très sollicités pour :

- une aide à l'interprétation des sérologies CMV (au moins 2 nouveaux dossiers par jour).
- une aide à la prise en charge d'une primo-infection maternelle avérée ou d'une infection fœtale avérée (environ 4 nouveau cas par semaine à Necker)
- L'aide à la prise en charge des nouveau-nés infectés

Les sollicitations viennent des collègues biologistes, obstétriciens et sage-femmes ou des patientes. Les conseils pour les collègues sont gérés par courriel ou téléphone. Concernant les patientes, nous les adressons au diagnostic prénatal pour des consultations en présentiel ou des téléconsultations auxquelles nous participons. Le centre de Necker a d'ailleurs mis en place une téléconsultation pour l'ensemble des CPDPN.

Nous recevons des appels téléphoniques quotidiens ou des courriels de médecins, sage-femmes ou de patients (ayant trouvé nos coordonnées par internet) pour des conseils concernant l'interprétation de résultats de tests sérologiques pendant la grossesse ou dans le cadre des dons de gamètes. Il s'agit parfois de conseils pour entreprendre une grossesse après une primo-infection, de conseils sur la prise en charge de l'infection fœtale puis pédiatrique. Par ailleurs, nous conseillons aussi nos collègues biologistes sur les performances et interprétation des techniques (sérologie mais aussi PCR CMV sur salive...). Le Pr Sophie Alain, le Dr S Hantz assurent la permanence du conseil sur l'infection congénitale à CMV au laboratoire CNR, avec environ un appel ou contact par jour. A Necker, les Dr Leruez-Ville et Jacques Fourgeaud reçoivent environ 2 à 3 appels par jour. Nous recevons par ailleurs de nombreux tubes pour expertise sérologique et diagnostics prénatal et néonatal dans les 2 laboratoires. La mise en place du dépistage dans de nombreux centres au niveau national a également considérablement augmenté les échanges avec les gynécologues obstétriciens publics ou privés et nous accompagnons les équipes (obstétriciens et biologistes) dans la prise en charge des infections congénitales et sur les choix thérapeutiques des enfants infectés. 300 patientes avec une suspicion de primo-infection à CMV ont été prises en charge conjointement par le CPDPN et le CNR (en présentiel ou en téléconsultation) dans l'année 2023 à Necker. Le CNR associé Necker a ouvert son staff de CPDPN à l'ensemble des équipes du territoire national via zoom pour conseil sur la prise en charge.

Les laboratoires de Necker et de Limoges souhaitent en 2024 organiser en parallèle une RCP pour la prise en charge des cas d'infections congénitales sous l'égide du CNR.

Prise en charge et traitement des infections à CMV, résistance aux antiviraux et nouvelles molécules thérapeutiques anti-CMV

- Conseil auprès des Pr S Alain ou S Hantz qui assurent une permanence téléphonique et par mail pour conseiller les praticiens de l'ensemble du territoire et les aider dans les choix thérapeutiques pour les patients difficiles à traiter ou des infections à CMV complexes notamment sous Belatacept, ou encore pour des infections à CMV hors transplantation, survenant sous biothérapies, conseil aux cliniciens pour les demandes d'ATU en cas de multirésistance chez les patients immunodéprimés, notamment sur la place respective des nouveaux antiviraux et des immunoglobulines et la surveillance de l'efficacité (plusieurs sollicitations quotidiennes de l'ensemble de France métropolitaine Suisse et DOM TOM).
- Implication forte de S Alain dans le conseil pour les molécules en ATU, indication, dosages, suivi et associations et l'obtention des nouvelles molécules pour les patients avec échange avec l'ANSM et les industriels notamment Cytotect

CP, maribavir, letermovir et dans le suivi des patients sous letermovir hors AMM. Sous forme de staffs, communications orales ou points téléphoniques ou par visioconférence avec les différents services de transplantation.

Autres infections à CMV

Le laboratoire CNR est également fréquemment sollicité par les médecins internistes ou généralistes pour des suspicions de CMV ou des infections à CMV ou à EBV atypiques ou persistantes ou encore des formes inhabituelles de primo-infection (pic d'immunoglobuline monoclonale, thrombocytopénie, thrombose mésentérique, CMV sur MCI ou après biothérapie, uvéites de l'immunocompétent...) Nous accompagnons les cliniciens dans la prise en charge de ces patients.

Infections à HSV et VZV

- Le Dr David Boutolleau reçoit quotidiennement 5 à 10 sollicitations (appels téléphoniques, courriels, courriers postaux) pour des questions concernant le diagnostic, la prise en charge thérapeutique ou la recherche de résistance aux antiviraux des infections par les HSV, le VZV, ou le CMV.
- Le Dr David Boutolleau participe à la RCP « Immunité et Infection », organisée tous les 15 jours sur le site de la Pitié-Salpêtrière, concernant la prise en charge des infections virales opportunistes chez les patients immunodéprimés, et à la RCP « Complications infectieuses des biothérapies en neurologie » organisée tous les mois sur le site de la Pitié-Salpêtrière,
- Le Pr S Alain et le Pr S Hantz reçoivent également régulièrement des appels pour des cas difficiles d'infection à HSV ou VZV ou des résistances. Ils les aiguillent vers les protocoles disponibles (participent à PrioH, pritélivir Aicuris) ou les molécules en ATU. Ils font appel si nécessaire à leurs collègues du laboratoire associé.

Infections à autres Herpesvirus

- Globalement le laboratoire de Grenoble gère par année une 30aine de prestations de conseil sur l'EBV dont environ 5 à 10 sont envoyés par les coordonnateurs du CNR Herpesvirus, à Limoges. Les personnes qui nous contactent sont principalement des médecins cliniciens et des collègues biologistes. Concernant l'EBV, la prestation de conseil porte le plus souvent sur l'interprétation de résultats de tests sérologiques EBV ou sur la discussion autour de cas graves ou atypiques d'infection à EBV.
- Les conseils concernant les infections à HHV6 sont assurés par les laboratoires de Limoges ou de la Pitié. Les demandes concernent le plus souvent des recherches d'ADN intégré ou des atteintes neurologiques.

RCP Nationales

- Le Pr S Alain le Dr Boutolleau et le Pr P Morand participent à une RCP nationale sur les encéphalites infectieuses au titre du CNR des Herpesvirus
- Contribution du CNR aux Recommandations de la FFADAN pour la prise en charge des infections congénitales à CMV à destination des pédiatres (M Leruez, S Alain) en 2023

Guidelines internationales:

- Le Pr S Alain a participé à la révision des recommandations internationales et définitions pour les essais cliniques concernant les infections à CMV (cf publications) en 2023
- Le Pr M Leruez a participé aux recommandations européennes de ECCI pour la prise en charge des infections congénitales à CMV (cf publications) en 2023

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Formations réalisées pour les professionnels

Le Pr Sophie Alain est membre du comité scientifique du réseau INSERM « VIRUS et Cerveau » et a participé au comité d'organisation de la première rencontre « Virus et Cerveau » organisée le 20 Novembre 2023 à Paris

Le Pr Sébastien Hantz est membre du groupe Périnatalité Et Pathogènes (PEPs) au sein de la SFM et organise avec le groupe la diffusion des recommandations du groupe concernant la prise en charge de ces infections

Le Dr Perrine Coste-Mazeau a participé aux webinaires REMIC de la SFM (voir ci-dessous)

Journée de la Société de Pharmacologie en transplantation. "Virologie du cytomégalovirus", S. Alain. Mars 2023

Staff du service de maladies infectieuses, Hôpital saint Antoine, "Cytomégalovirus Actualités diagnostiques et thérapeutiques", S. Alain. Mars 2023

Staff du service de Néphrologie, Tenon, "Torquetenovirus un nouvel outil de surveillance immunologique". Hôpital saint Antoine Paris. S. Alain. Juin 2023.

Staff du service de maladies infectieuses, Hôpital Tenon "Cytomégalovirus Actualités diagnostiques et thérapeutiques", S. Alain. Juin 2023.

WEBINAR: Cellular response and CMV infections in transplant recipients" S. Alain.

Laboratoire CNR associé Necker :

WEBINAR : Diagnostic virologique et bilan pronostique de l'infection congénitale à CMV néonatale. M Leruez-Ville. SFM. Juin 2023

WEBINAR : Infection congénitale à CMV. Réseau des laboratoires Biogroup 23 janvier 2024

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le Dr David Boutolleau est membre du comité d'organisation des webinaires REMIC'S de la Société Française de Microbiologie (SFM). Il s'agit de webinaires hebdomadaires qui durent 30 à 45 minutes et qui font le point sur des questions diagnostiques en microbiologie, dont certains thèmes reprennent des recommandations du référentiel de microbiologie (REMIC). Ces webinaires s'adressent aux microbiologistes cliniques (internes, statutaires) de différents horizons : CHU, hôpitaux périphériques, laboratoires privés. En 2023, plusieurs webinaires ont été consacrés aux herpèsvirus :

- Virus de la varicelle et du zona (Dr David Boutolleau. 23 mars 2023)
- 8e herpèsvirus humain (Dr Aude Jary. 7 septembre 2023)
- Virus Epstein-Barr (Pr Patrice Morand. 9 novembre 2023)

Le Dr David Boutolleau est également co-responsable de la Section Virologie de la SFM. En 2023, cette section a organisé 2 webinaires consacrés à l'infection congénitale par le CMV.



Le Dr David Boutolleau est membre du bureau de l'action coordonnée AC53 « Infections sexuellement transmissibles » de l'ANRS-MIE (dirigé par les Pr J. Gohsn et C. Bébéar). Il a en charge la thématique de l'herpès génital.

Le Dr David Boutolleau est membre du comité scientifique du réseau Virus et Greffes

Membre	Spécialité	Hôpital
Jérôme Le Goff	Virologie	AP-HP (Saint-Louis)
David Boutolleau	Virologie	AP-HP (Pitié-Salpêtrière)
Samira Fafi-Kremer	Virologie	Strasbourg
Guislaine Carcelain	Immunologie	APHP (Robert Debré)
Sophie Candon	Immunologie	Rouen
Alienor Xhaard	Greffé de CSH (adultes)	APHP (Saint-Louis)
Arthur Sterin	Greffé de CSH (enfants)	AP-HM Marseille
Florence Ader	Infectiologie	Lyon (HCL)
Hannah Kaminski	Greffé rénale (adultes)	Bordeaux
Olivier Thaunat	Greffé rénale (adultes)	Lyon (HCL)
Julien Hogan	Greffé rénale (enfants)	APHP (Robert Debré)

A ce titre, il a participé à l'organisation de la journée Virus et Greffes qui s'est tenue aura le 26 janvier 2024 à la Cité Internationale Universitaire (Paris). Cette journée sera organisée annuellement.

Dans le cadre de sa participation aux Journées approche syndromique BioFire organisées par bioMérieux (Lyon, France. 18 - 19 septembre 2023 ; cf infra), le Dr David Boutolleau a pu proposer à la communauté des microbiologistes le positionnement et les bonnes pratiques d'utilisation du panel ME sur l'automate FilmArray pour le diagnostic des méningites et encéphalites d'origine infectieuse.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Le CNR participe à la **société savante ECCI (European Congenital CMV Initiative)**. Il s'agit d'un réseau d'experts travaillant sur l'infection congénitale à CMV et dont le but est d'accroître les connaissances du public et des professionnels de santé sur l'infection congénitale à CMV et de promouvoir la recherche sur cette thématique. Le site de l'ECCI vient d'être recréer (ECCI.group), Marianne Leruez-Ville fait partie du board en tant que trésorière. Le board se réunit une fois par mois. ECCI organise un meeting tous les 2 ans, le dernier meeting a été organisé en Grèce en octobre 2022, le prochain aura lieu à Leiden en octobre 2024. Par ailleurs, un Workshop et une réunion d'experts ont eu lieu en avril 2023 ce qui a permis l'élaboration, l'écriture et la **publication de recommandations européennes** pour la prise en charge de l'infection congénitale à CMV sous la coordination de Marianne Leruez-Ville (Lancet Public Regional Health Europe, sous presse).

Les membres du CNR (Sophie Alain et Marianne Leruez-Ville) ont participé au **groupe de travail GT-CMV de la Fédération Française des Acteurs du Dépistage Auditif Néonatal (FFADAN)**. L'objectif de ce groupe de travail transversal était de formuler des recommandations pour le dépistage ciblé du CMV chez les nouveau-nés sur les résultats du dépistage auditif néonatal et d'en constituer un guide pratique.

Le CNR participe à la surveillance des nouveaux antiviraux disponibles en ATU (S Alain intervient en tant qu'**expert auprès de l'ANSM pour les ATU**), et à la validation des indications d'AMM des anti-CMV **auprès de la HAS** : et Sophie Alain (Maribavir).

Participation au groupe de recommandations sur la prise en charge des infections à HSV et HPV au nom du **CNS et de l'ANRS** sous l'égide de la HAS depuis mars 2022 jusqu'à octobre 2023 (expert S Hantz)

Participation (S Alain) en tant que représentante du CNR herpèsvirus au **groupe de travail de microbiologie de la CHAB** pour la CPAM.

Etudes commanditées par les autorités de santé : S Alain a été sollicitée pour travailler en collaboration avec le Dr T. Galperine, (CHU de Lille), sur le risque de transmission du CMV à partir des selles lors d'une transplantation fécale. La présence du CMV dans les selles de patients immunodéprimés présentant une infection active à CMV a été démontrée par PCR au laboratoire CNR. L'étude TransfeCMV a donc été mise en place pour étudier le pouvoir infectieux réel de ces virus et quantifier la charge virale fécale chez les donneurs de selles potentiels. Etude TransfeCMV (NCT02694484) 500 patients inclus. Aucune PCR CMV n'a été identifiée comme positive dans les selles des volontaires séropositifs IgG ou IgM, ou en cours de primo infection. La culture CMV « sensible » par centrifugation de l'inoculum, n'a pas permis de montrer la présence de virus infectieux chez les volontaires porteurs d'IgM CMV. Rapport à l'ANSM en 2019. Présentation au congrès de la RICAI 2019 et **publication dans Plos one en 2023**.

Le Pr S Alain a participé à la **commission de désignation des LBMR** en 2023

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Site internet développé et hébergé par le CNR de Limoges

- Adresse du site internet : www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/
- Elargi en 2018 aux autres herpesvirus
- Mise à jour et diffusion des évaluations techniques et des recommandations du CNR sur le site du CNR ou avec les partenaires (GRIG, FFADAN etc...)
- Diffusion de la version publique du rapport annuel
- Lien avec d'autres sites sur le sujet notamment dans le cadre de l'infection congénitale à CMV
- Diaporamas des conférences et FMCs
- Base de données sur les mutations de résistance et les mutations de polymorphisme sur les gènes cibles des antiviraux

Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR / Rétro-information aux partenaires

- Newsletter annuelle pour le recensement des infections congénitales à CMV et pour la surveillance des infections néonatales à HSV, adressée à l'ensemble du réseau et consultable sur le site du CNR
- Nombreuses conférences invitées permettant la diffusion des données de surveillance de résistance (cf liste) et des recommandations du CNR

Communications / médias

- Réalisation d'un MOOC infection congénitale à CMV avec la participation de plusieurs membres du CNR (S Alain, J Fourgeaud, Y, T Guilleminot, S Hantz, M Leruez-Ville). Les tournages ont eu lieu en 2022/2023. Ce MOOC est en accès libre sur le site de l'Université Paris Cité : <https://www.pns-mooc.com/fr/mooc/30/presentation#> .

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Résistance du CMV aux antiviraux et nouveaux antiviraux

Nous avons poursuivi les travaux de caractérisation des nouvelles mutations *in silico* et par phénotype sur virus recombinant ainsi que le développement des modèles *in silico* des différentes protéines-cible des antiviraux. (cf surveillance des nouvelles mutations paragraphe 3.3.1)

Apport des données de résistance du CNR et de son expertise aux travaux de recherche :

- **Etude des mutations de l'essai de phase 3 Solstice**
Les échappements thérapeutiques au maribavir et aux autres antiviraux au cours de l'étude de phase III ont été caractérisés et le CNR a participé à l'analyse des données. (Chou S., Alain S., et al. JID 2023)
- **Etude de l'efficacité et des mutations de résistance au cours du protocole d'utilisation thérapeutique du maribavir, en vie réelle** (publication en préparation)
- **Etude des facteurs de risque de résistance au maribavir en greffe rénale** (étude en cours)

Caractérisation d'un nouveau domaine de pUL51 essentiel au fonctionnement du complexe terminase du CMV et potentielle cible thérapeutique

Le complexe terminase est composé de 3 protéines pUL56, pUL89 et pUL51 assurant l'étape d'encapsidation de l'ADN viral. Le létermovir est une molécule ciblant cette étape. Son mécanisme d'action n'est pas totalement élucidé mais l'apparition de mutations de résistance est en faveur de l'implication des protéines pUL56, pUL89 et plus récemment de la protéine pUL51. A ce jour, il existe peu de données sur la protéine pUL51. Nous avons récemment décrit ses domaines conservés et établit une prédiction de structure tridimensionnelle (Muller et al. Antiviral research 2022). Nous y avons également décrit une nouvelle mutation de résistance au létermovir (A95V). Dans la suite de ces travaux, nous avons caractérisé un domaine en leucine-zipper (LZ) indispensable à la fonction de pUL51. Nous avons également envisagé une nouvelle stratégie thérapeutique à base d'un peptide ciblant ce domaine LZ. Cependant, ce peptide a présenté une efficacité modérée, vraisemblablement limitée par sa capacité de pénétration cellulaire. Des travaux d'optimisation de cette stratégie thérapeutique sont en cours d'évaluation. **Ces travaux ont été publiés par Clotilde Muller dans Antiviral Research en 2023.**

Evaluation de marqueurs de risque d'infection à CMV

- Quantic R+/TTV

Nous avons réalisé une charge virale TTV chez les patients greffés rénaux de l'étude Quantic R+ et montré qu'en association avec le Quantiféron CMV, ce marqueur pouvait aider à prédire la survenue d'une infection à CMV. Ce travail a été présenté en poster au **CMV Workshop 2022 par Sarah Mafi**, et publié en 2023 dans **Frontiers in Medicine**.

- Evaluation de l'intérêt du Quantiféron CMV chez les transplantés cardiaques pour prédire les récurrences

Cette étude observationnelle rétrospective monocentrique a inclus tous les transplantés cardiaques ayant développé une infection à CMV entre 2019 et 2021 au CHU de Lille, le test QuantiFERON®-CMV ayant été évalué au moment de la fin du traitement curatif au (val)ganciclovir. Parmi les 15 patients inclus, cinq (33%) ont connu une récidive, dont trois (60%) avaient un test QuantiFERON®-CMV positif. La durée de la prophylaxie secondaire était similaire indépendamment de la positivité du test QF-CMV. Aucun facteur de confusion n'a été significativement associé à la récurrence du CMV. Dans la population des transplantés cardiaques, dont la plupart ont reçu une induction à base d'ATG, le test QuantiFERON®-CMV peut ne pas prédire avec précision la récurrence du CMV et n'aurait pas aidé à affiner la durée de la prophylaxie secondaire chez nos patients. Ce travail réalisé en collaboration avec les cliniciens et les virologues de Lille a été publié dans **Clinical transplantation en 2023**.

- Evaluation du Quantiferon CMV sur l'automate Liaison XL Diasorin

Ce travail réalisé au CHU de Limoges a permis de montrer que les performances du QF-CMV automatisé sur Liaison XL sont comparables à celles du QF-CMV réalisé par ELISA avec une sensibilité vraisemblablement plus élevée pour la détection de l'IFN-γ. En outre, l'utilisation d'un analyseur random access permet d'optimiser le suivi des transplantés avec un temps de rendu des résultats plus rapide. **Ce travail réalisé par Sara Mafi a été publié dans J Clin Virol en 2023.**

Infection congénitale à CMV

Nous avons déjà caractérisé le potentiel du Cytotect CP® (Biostest, Allemagne), immunoglobulines hyperimmune CMV, pour la prévention ou le traitement de l'infection congénitale à CMV dans notre modèle de placenta de premier trimestre. Ce travail nous a permis de montrer ex vivo sur des villosités placentaires de premier trimestre, que l'action de ces HIG était essentiellement de neutraliser les virions et de prévenir l'infection des tissus, avec peu d'effet sur la propagation intra tissulaire du virus (Coste-Mazeau et al, Microorganisms, 2022). Cependant, l'efficacité dans notre modèle apparaissant limitée dans le temps nous avons voulu préciser la durée d'action des HIG. Nous avons donc complété ces travaux par une partie expérimentale évaluant l'efficacité du Cytotect avec et sans renouvellement de milieu à J7 pour la prévention de l'infection des villosités dans notre modèle placentaire. **Ces derniers travaux ont fait l'objet d'une communication orale lors de l'European Congenital Cytomegalovirus Initiative (ECCI), à Athènes en octobre 2022 et ont été publiés dans Antiviral Research en 2023.**

Caractérisation virologique et moléculaire par étude du génome entier en NGS des souches de CMV réalisant une infection des différentes structures du placenta dans le modèle d'explants placentaires du premier trimestre : Nous avons recherché des caractères particuliers de ces souches en culture et démontré que le comportement des souches différait selon les souches en termes de cellules cibles ou de rapidité de progression au sein du placenta. L'analyse en *whole genome* n'a pas montré de différences significatives dans la variabilité des gènes entre les souches associées à une symptomatologie et celles ne donnant pas de symptômes. Ce travail a été publié en 2023 dans Plos Pathogens. (Andouard et al., Plos Pathogens, 2023)

Cette étude préliminaire nous a conduit à revoir notre technique de capture CMV, en lien avec l'équipe de Judith Breuer au Royal London Hospital et d'intégrer pour la France, le groupe de travail international sur l'analyse génomique des souches de CMV responsables d'infections maternofoetales. Nous avons envoyé notre Bioinformaticien se former dans ce laboratoire à l'identification des haplotypes et nous colligeons actuellement toutes les souches françaises déclarées par les centres associés à la base de données pour contribuer à cette analyse internationale.

Laboratoire CNR associé Necker :

CYMEPEDIA (NCT01923636) (PHRC, Investigateur principal : Dr Leruez-Ville)

L'objectif principal de l'étude était d'élaborer une classification pronostique précoce (en période néonatale) de la survenue de séquelles neuro-développementales et sensorielles à un an et à 2 ans chez des enfants infectés in utero par le CMV. En effet, environ 20 % des nouveau-nés atteints de CMV congénital développent des séquelles à long terme. La capacité de prédire avec précision l'issue à long terme dès la période néonatale aiderait à fournir des conseils parentaux et des indications de traitement appropriés.

Les nouveau-nés diagnostiqués avec le CMV dans 13 hôpitaux à travers la France ont été recrutés de 2013 à 2017. Les nouveau-nés ont été évalués jusqu'à au moins deux ans avec des évaluations cliniques, audiologiques, d'imagerie et des tests de développement psychomoteur. 253 nouveau-nés ont été inclus, 227 ont été suivis pendant 2 ans, 91/227 (40%) étaient symptomatiques à la naissance et 44/227 (19%) ont eu des séquelles du CMV. Un modèle prédictif d'absence de risque de séquelles à deux ans en fonction de l'absence de perte auditive à la naissance, de toute anomalie à l'échographie cérébrale et de thrombocytopenie avait une spécificité élevée (98%) et une bonne aire sous la courbe (0,89 (0,83, 0,96)).

Ce modèle, basé sur des marqueurs néonataux facilement disponibles, permet d'identifier avec une grande précision les nouveau-nés infectés par le CMV sans risque de séquelles à long terme. Son utilisation devrait aider le clinicien à établir un parcours de soins personnalisé pour chaque nouveau-né infecté.

Ces résultats ont été présentés au congrès de l'ECCI en octobre 2022 et ont été publiés en mars 2024 dans *Pediatrics* (Fourgeaud J et al).

Protocole de TRAITEMENT PREVENTIF DE LA TRANSMISSION VERTICALE DU CMV PAR LE VALACICLOVIR

Notre groupe a réalisé une méta-analyse sur données individuelles issues de 3 études évaluant l'efficacité du valaciclovir (1 RCT, 2 études observationnelles analysées par score de propension). Les odd ratio du traitement par valaciclovir étaient de 0,34 (95% CI 0,18-0,61) pour la population totale, 0,30 (95% CI 0,17-0,54) pour les femmes ayant fait une primo-infection datée au 1er trimestre et 0,30 (95% CI 0,14-0,61) pour les femmes ayant fait une primo-infection datée en période périconceptionnelle. L'étude montre aussi une diminution significative des interruptions médicales de grossesse dans le groupe traité.

Ces résultats ont été présentés au Congenital CMV Workshop en avril 2023 et ont été publiés début 2024 (Chatzakis C et al, 2024).

CYMEVAL III (PHRC, responsable scientifique : M Leruez-Ville)

Il s'agit d'un essai randomisé, en double aveugle qui inclut des mères présentant un fœtus infecté après infection maternelle du premier trimestre. Dans le bras comparateur, les mères des fœtus infectés sont traitées par 8g/j de valaciclovir, dans l'autre bras elles sont traitées par 240 mg/jour de Letermovir. Le traitement est instauré du diagnostic de l'infection fœtale jusqu'à la naissance ou l'interruption médicale de grossesse. L'objectif principal est d'obtenir significativement plus souvent une charge virale négative par PCR CMV dans le sang néonatal dans le bras Letermovir par rapport au bras valaciclovir. Les inclusions ont commencé en novembre 2023, 10 patientes ont été incluses à ce jour.

CYME-IMMUNE

L'investigateur coordonateur de cette étude est le Dr Marianne Leruez-Ville. L'objectif de l'étude CYME-IMMUNE est d'identifier des marqueurs maternels viro-immunologiques du risque de l'infection congénitale à CMV chez les femmes séropositives avant leur grossesse.

Le protocole prévoit d'inclure 1800 patientes sur 2 ans. Les inclusions ont commencé en octobre 2022 et en février 2024, 995 patientes séropositives avaient été incluses à 12 semaines d'aménorrhée. Des prélèvements de plasma, sang total, urines et cellules mononucléées ont été recueillis. 421 de ces patientes ont accouché en février 2024, des prélèvements de sang et d'urine ont été recueillis ainsi que les prélèvements salivaires des nouveau-nés.

Les premiers résultats sont 1089 PCR CMV urinaires réalisées par la trousse (CMV-R gene) sur la chaîne d'automatisation Emag/Estream® (bioMérieux, France). 895 dans les urines du 1er trimestre et 194 dans les urines prélevées au 3ème trimestre. La PCR dans les urines était positive dans 5,5% (49/895) des urines prélevées au 1er trimestre (proche de l'hypothèse de 3% basée sur la littérature) et dans 3,1% (6/194) des urines prélevées en fin de grossesse (inférieur à l'hypothèse de 10%). Une grossesse a été interrompue pour infection sévère à CMV et un nouveau-né a été infecté mais asymptomatique.

LUCY

Le ganciclovir et le valganciclovir, sont les médicaments de choix pour traiter les infections et les maladies à CMV chez les patients immunodéprimés. Cependant, la toxicité hématologique de ces antiviraux et le développement d'infections résistantes peuvent en limiter l'efficacité. Ainsi, il reste intéressant de tester de nouvelles stratégies anti-CMV ayant un meilleur index thérapeutique que le (val)ganciclovir en monothérapie, c'est-à-dire permettant un contrôle plus rapide de la réPLICATION virale, une durée plus courte du traitement antiviral, un meilleur profil de sécurité et un risque plus faible de sélection de mutations de résistance aux médicaments.

Le letermovir a récemment été mis sur le marché pour prévenir les infections à CMV chez les receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques (HSCT). En culture cellulaire, le letermovir surpassé le ganciclovir de plus de 400 fois en ce qui concerne la CE50 et de plus de 2 000 fois en ce qui concerne la CE90. Son profil de sécurité chez l'homme ne soulève aucune inquiétude particulière. Dans cet essai nous souhaitons tester l'efficacité d'une bithérapie valganciclovir +letermovir chez des greffés d'organe répliquant le CMV.

L'investigateur coordonateur de cet essai clinique est le Pr Pierre France, le Dr Marianne Leruez-Ville est le responsable scientifique. L'objectif principal de l'essai LUCY est de démontrer que, par rapport au valganciclovir en monothérapie, l'association letermovir + valganciclovir administrée aux transplantés rénaux atteints d'une infection à CMV augmente la proportion de patients atteignant une réponse virologique à la semaine 3 (définie comme une diminution $\geq 2 \log_{10}$ de l'ADNémie CMV par rapport aux valeurs initiales ou une ADNémie CMV indétectable ($< 200 \text{ UI/mL}$) à la semaine 3). Il s'agit d'un essai randomisé en double aveugle contre placebo avec un groupe de 40 patients recevant du valganciclovir + letermovir et un groupe de 40 patients témoins recevant valganciclovir + placebo de letermovir. Le laboratoire CNR Necker est coordonateur de l'essai et centralise les prélèvements et va réaliser les charges virales CMV et les génotypages de résistance en NGS (voir plus loin paragraphe sur le projet N+1 et N+2). Les premières inclusions ont été décalées en raison de retard dans la préparation du placebo. Les premières inclusions sont maintenant prévues en juin 2024.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

▪ Utilisation des nouveaux antiviraux pritélivir et aménamévir

Le pritélivir (PTV) et l'aménamévir (AMNV) sont 2 nouveaux antiviraux qui inhibent le complexe helicase-primase (HP) des HSV. L'AMNV (AMENALIEF[®]) est disponible en accès compassionnel et le PTV est actuellement évalué dans l'essai clinique international de phase 3 PRIOH-1. Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière dispose depuis plusieurs années de la technique de séquençage des gènes codant le complexe HP (UL5/UL52) des HSV-1 et HSV-2 (Collot et al., Antiviral Res, 2016). Ainsi, nous pouvons surveiller l'émergence de la résistance des HSV au PTV ou à l'AMNV chez les patients qui reçoivent d'ores et déjà ces traitements. Nous avions précédemment décrit l'efficacité d'un traitement par pritélivir chez 2 patientes allogreffées de cellules souches hématopoïétiques souffrant d'un herpès génital à HSV-2 résistant à l'aciclovir (Serris et al., J Antimicrob Chemother, 2022). En 2023, nous avons décrit 6 cas de patients souffrant de kératite herpétique récidivante due à une souche de HSV-1 résistante à l'aciclovir et pour lesquels un traitement par aménamévir a permis la résolution complète de l'infection oculaire (Boucher et al., Cornea [soumis]). Par ailleurs, nous avons également rapport le cas de 2 patientes allogreffées de cellules souches hématopoïétiques souffrant d'un herpès labial à HSV-1 résistant à l'aciclovir et pour lesquelles un traitement par AMNV a permis la guérison de l'infection herpétique (Sallée L et al., Int J Antimicrob Agents [accepté]).

▪ Transmission du HSV-2 au cours d'une transplantation rénale

La transmission du HSV-1 ou du HSV-2 au cours des transplantations d'organe solide est un phénomène rare. Nous avons décrit le cas d'une transmission de HSV-2 au cours d'une greffe rénale chez une receveuse séronégative pour le HSV-2 à partir d'un donneur séropositif pour le HSV-2. Trois mois après la greffe, la patiente a présenté une infection disséminée due au HSV-2 avec méningoencéphalite. De plus, le virus était résistant à l'aciclovir, certainement sélectionnée au cours de la prophylaxie anti-CMV par valganciclovir reçue par la patiente. Elle est décédée des suites d'une atteinte virale multi-viscérale (Truffot et al., Int J Antimicrob Agents, 2023).

▪ Revisite de la physiopathologie de la réactivation du VZV

La recherche du génome du VZV par PCR est très souvent demandé sur les lavages broncho-alvéolaires (LBA) des patients hospitalisés en réanimation. Nous nous sommes posé la question de la pertinence de cet examen. Nous avons mené une étude monocentrique rétrospective à la Pitié-Salpêtrière. Entre 2012 et 2020, 12/1389 patients (0,8%)

avaient une PCR VZV positive dans un LBA. L'immunodépression et un long séjour en réanimation constituaient les principaux facteurs de risque. Cette détection du VZV n'était pas associée à une détérioration respiratoire mais à l'apparition d'un zona dans les jours suivants. En conclusion, la détection du VZV dans le LBA est un événement très rare qui survient chez les patients immunodéprimés qui séjournent longtemps en réanimation (Guiraud V et al., *J Clin Virol*, 2023 [1]). Par ailleurs, si la détection du VZV dans le sang au moment du zona semble constante, même pour les patients immunocompétents, sa présence dans le sang les jours précédant l'éruption cutanée n'est pas démontrée. Nous avons mené une étude dont l'objectif était de déterminer si une ADNémie VZV pouvait précéder le zona. Entre 2009 et 2023, nous avons identifié 138 patients différents atteints de zona dont 13 avaient un prélèvement de sang disponible la semaine précédant l'éruption zostérienne. Douze (92%) patients étaient immunodéprimés. Au cours de la semaine précédant le zona, une ADNémie VZV a été détectée chez 10 (77%) patients avec un délai médian de 4 jours (IQR 2,2-5,7) avant le zona. La charge virale médiane était de 3,6 log (copies/mL) (IQR 3,3-3,9). Nos résultats montrent qu'une ADNémie VZV est fréquemment détectée durant la semaine précédant l'apparition d'un zona chez les patients immunodéprimés. Un dépistage précoce, notamment au cours de la phase prodromale du zona chez les patients fortement immunodéprimés, pourrait contribuer à améliorer la prise en charge et le pronostic de cette pathologie (Guiraud V et al., *J Clin Virol*, 2023 [2]).

▪ Facteurs associés à la résistance du CMV aux antiviraux en greffe d'organe solide

L'objectif de cette étude était de préciser les facteurs associés au développement d'une infection par le CMV résistante aux antiviraux chez les greffés d'organe solide et d'évaluer la place potentielle du létermovir dans la stratégie thérapeutique de ces patients. Il s'agissait d'une étude de cohorte rétrospective incluant les 81 patients greffés d'organe solide (rein, cœur, foie) des hôpitaux Pitié-Salpêtrière et Tenon ayant bénéficié d'un test génotypique de résistance (séquençage des gènes *UL97* et *UL54*) pour infection/maladie à CMV réfractaire (baisse de charge virale sanguine < 1 log UI/mL à J14 de traitement antiviral) entre le 1^{er} janvier 2010 et le 31 décembre 2019 à partir de la base de données du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière. Les patients étaient répartis en 2 groupes selon les résultats du test génotypique de résistance : groupe S (CMV sensible à tous les antiviraux, infection réfractaire, n=55) et groupe R (CMV résistant à au moins un antiviral : ganciclovir, foscarnet, cidofovir, n=26). La résistance du CMV aux antiviraux (groupe R) était associée au statut sérologique CMV négatif du receveur (54% versus 20%, p=0,004), à une stratégie de prophylaxie antivirale systématique (70% versus 40%, p=0,02), ainsi qu'à une mortalité à un an plus élevée (19% versus 3,6 %, p=0,03) malgré le plus jeune âge des patients (48±12 versus 54±10 ans, p=0,03). La charge virale sanguine CMV lors de la recherche de résistance était plus élevée dans le groupe R (médiane 26.10³ IQR [10.10³-141.10³] versus 15.10³ IQR [2,5.10³-75.10³] UI/mL, p=0,03). Le sexe, le type d'organe greffé, le traitement d'induction, le DFG <30ml/min/1.73m², les atteintes d'organes, le temps de clairance virale et la survenue d'une toxicité sous traitement n'étaient pas significativement associés à la résistance du CMV aux antiviraux (Tamzali et al., *Transpl Inter*, 2023).

▪ Analyse séro-épidémiologique des herpèsvirus humains en France

Dans la cadre d'une étude collaborative avec le Dr Samuel ALIZON (CNRS), nous avons effectué une analyse de la séroprévalence des différents herpèsvirus en France. L'objectif principal de l'étude est d'acquérir une meilleure compréhension épidémiologique populationnelle et clinique des infections par les herpèsvirus en France. Les objectifs secondaires sont : (a) Analyser de manière spatio-temporelle la séroprévalence de 5 herpèsvirus (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV et EBV) en France ; (b) Analyser les variations longitudinales d'index et de titres d'anticorps à l'aide des stratifications en année de naissance et de suivis longitudinaux ; (c) Elaborer des modélisations mathématiques d'infections sexuellement transmissibles causées par des herpèsvirus en prenant en compte les co-infections.

Coordinateur scientifique principal : Dr Samuel ALIZON (CNRS)

Co-coordinateur scientifique : Dr Mircea T. SOFONEA (CNRS)

Investigatrice principale : Pr Sonia BURREL (CHU Bordeaux, CNRS)

Investigateur associé : Dr David BOUTOLLEAU (AP-HP, INSERM, CNR Herpèsvirus)

Analyste : Olivier SUPPLISSON

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique de la SPILF. Olivier SUPPLISSON est un doctorant financé par une allocation de recherche de l'ANRS-MIE pour une durée de 36 mois. Une autre étude sur cette même thématique est également réalisée avec les laboratoires CERBA (Dr Benoît Visseaux et Dr Stéphanie Haïm-Boukobza). Les

premiers résultats obtenus ont été soumis pour publication : Supplisson O et al., *Lancet Public Health* (soumis) et Supplisson O et al., *Lancet Inf Dis* (soumis).

- **Etude RetroAlpha 14-18 : étude des infections neuroméningées par les alphaherpèsvirus (HSV-1, HSV-2, VZV) en France au cours de la période 2014-2018**

La 1^{re} partie de cette étude avait permis :

- (i) d'estimer les incidences des infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus sur cette période : 3,7, 2,5 et 5,4 cas/million d'habitants/an pour **HSV-1, HSV-2 et VZV**, respectivement.
- (ii) de décrire les caractéristiques démographiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques des 3125 patients adolescents et adultes avec un résultat de PCR positif dans le LCS : 1573 femmes (50,3%), 1552 hommes (49,7%), âge médian 57 ans (IQR : 35,9-73,2).

Les résultats avaient été présentés au cours de congrès nationaux (RICAI, SFM) et internationaux (ECCMID)

En 2023, la 2^e partie de cette étude, comprenant les analyses transcriptomiques et métatranscriptomiques de 286 reliquats de prélèvements de LCS positifs en **HSV-1, HSV-2 ou VZV**, prélevés dans le cadre du soin médical, a été achevée en collaboration avec le Pr Christophe RODRIGUEZ (Hôpital Henri Mondor). Tout d'abord, L'analyse en composante principale (PCA) a montré que le profil de transcriptomique humaine dans les LCS positifs pour un des virus était très différent de celui dans les 53 LCS négatifs pour des agents infectieux (groupe contrôle). Toutefois, les profils n'étaient pas distincts entre les différents virus (HSV-1, HSV-2 et VZV). De plus, l'analyse ontologique a permis d'identifier que la voie de présentation de l'antigène était particulièrement modifiée dans les LCS positifs. Les résultats de transcriptomique virale ont montré des quantités d'ADN et d'ARN viral moins élevées dans les LCS positifs pour le HSV-2 que dans les LCS positifs pour le HSV-1 ou le VZV ($p=0,011$). De plus, on a montré la surexpression de certains gènes vitaux dans les méningites à HSV-2 (ex : UL17, UL15, UL12) et d'autres gènes vitaux dans les encéphalites à HSV-1 (ex : UL55, UL16, US1 et US2). Ces résultats ont été présentés à l'ESCV 2023 (Milan).

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Publications internationales

Acquier M, Taton B, Alain S, Garrigue I, Mary J, Pfirmann P, Visentin J, Hantz S, Merville P, Kaminski H, Couzi L. Cytomegalovirus DNAemia Requiring (Val)Ganciclovir Treatment for More Than 8 Weeks Is a Key Factor in the Development of Antiviral Drug Resistance. Open Forum Infect Dis. 2023;10(2):ofad018.

Galpérine T, Engelmann I, Hantz S, Postil D, Dewilde A, Deplanque D, Martin R, Labreuche J, Lazrek M, Somers S, Ribot E, Alain S. Cytomegalovirus in fecal microbiota transplantation, the phantom menace? Results of a prospective transversal multicenter single arm study on Cytomegalovirus in Healthy Volunteers' Stools Samples Selected as Potential Donors for Fecal Microbiota Transplant (TRANSFECMV). Plos One. 2023 Jun 29;18(6):e0287847.

Mafi S, Essig M, Rerolle JP, Lagathu G, Crochette R, Brodard V, Schvartz B, Gouarin G, Bouvier N, Engelmann I, Gartska A, Bressolette C, Cantarovich D, Germi R, Janbon B, Archimbaud C, Heng A-E, Garnier F, Gomes Mayeras M, Labrunie A, Hantz S*, Alain S*(* equal contribution). Torque Teno Virus viremia and QuantiFERON®-CMV assay in prediction of cytomegalovirus reactivation in R+ kidney transplant recipients. Frontiers in medicine. 2023 Jun 22;10:1180769.

Coste Mazeau P, Berto L, Andouard D, El Hamel C, Chianeau T, Hantz S, Alain S. New therapeutic perspective in the prevention of congenital cytomegalovirus infection. Antiviral Res. 2023 Aug;216:105661.

Muller C, Alain S, Hantz S. Identification of a leucine-zipper motif in pUL51 essential for HCMV replication and potential target for antiviral development. Antiviral Res. 2023 Sep;217:105673.

Mafi S, Alain S, Hantz S. Evaluation of the fully automated LIAISON®XL chemiluminescence analyzer for QuantiFERON®-CMV testing in transplant recipients. J Clin Virol. 2023 Sep;166:105550.

Sermet K, Goeminne C, Hantz S, Assaf A, Faure E, Lazrek M, Faure K, Alain S, Vuotto F. Reliability of QuantiFERON®-CMV in predicting CMV recurrence in heart transplant recipients: A single-center retrospective study. *Clin Transplant.* 2023 Dec;37(12):e15109.

Gourin C, Alain S, Hantz S. Anti-CMV therapy, what next? A systematic review. *Front Microbiol.* 2023 Nov 20;14:1321116.

Kotton CN, Torre-Cisneros J, Yakoub-Agha I; CMV International Symposium Faculty. Slaying the "Troll of Transplantation"-new frontiers in cytomegalovirus management: A report from the CMV International Symposium 2023. *Transpl Infect Dis.* 2024 Feb;26(1):e14183. doi: 10.1111/tid.14183. Epub 2023 Nov 9. PMID:37942955.

Chou S, Alain S, Cervera C, Chemaly RF, Kotton CN, Lundgren J, Papanicolaou GA, Pereira MR, Wu JJ, Murray RA, Buss NE, Fournier M. Drug Resistance Assessed in a Phase 3 Clinical Trial of Maribavir Therapy for Refractory or Resistant Cytomegalovirus Infection in Transplant Recipients. *J Infect Dis.* 2023 Jul 28;jiad293. doi: 10.1093/infdis/jiad293. PMID: 37506264.

Andouard D, Tilloy V, Ribot E, Mayeras M, Diaz-Gonzalez D, El Hamel C, Piras-Douce F, Mantel N, Alain S. Genetic and Functional Characterization of Congenital HCMV Clinical Strains in Ex Vivo First Trimester Placental Model. *Pathogens.* 2023 Jul 27;12(8):985. doi: 10.3390/pathogens12080985. PMID: 37623946; PMCID: PMC10460061.

Truffot A, Noble J, Darteville A, Chevalier E, Dard C, Giovannini D, Andreani J, Burrel S, Boutolleau D, Epaulard O, Pavese P, Morand P, Julien L, Germi R. Fatal HSV-2 primary infection most likely acquired by kidney transplantation: a case report. *Int J Antimicrob Agents* 2023 ; 61 : 106769.

Guiraud V, Burrel S, Luyt CE, Boutolleau D. Prevalence and clinical relevance of VZV lung reactivation in intensive care unit patients: a retrospective cohort study. *J Clin Virol* 2023 ; 164 : 105470.

Tamzali Y, Pourcher V, Azoyan L, Ouali N, Barrou B, Conti F, Coutance G, Gay F, Tourret J, Boutolleau D. Clinically refractory cytomegalovirus infection among solid organ transplant recipients: Factors associated with genotypic resistance and outcome. *Transpl Inter* 2023 ; 36 : 11295.

Guiraud V, Thévenet H, Boutolleau D. Detection of varicella zoster virus DNA in blood from immunocompromised patients during the week preceding the onset of herpes zoster rash. *J Clin Virol* ; 169 : 105609.

Fourgeaud J, Magny JF, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, Benard M, Pinquier D, Minodier P, Astruc D, Patural H, Ugolin M, Parat S, Guillois B, Garenne A, Guilleminot T, Parodi M, Bussières L, Ville Y, Leruez-Ville M. Clinical value of serial quantitative analysis of cytomegalovirus DNA in blood and saliva over the first 24 months of life in congenital infection: The French Cymepedia cohort. *J Pediatr.* 2023 Feb;253:197-204.e5. doi: 10.1016/j.jpeds.2022.09.040. Epub 2022 Sep 28. PMID: 36181870

Courtejean A, Leruez-Ville M, Treliuyer JM, Tsatsaris V, Ville Y, Charlier C, Chouchana L. Assessing the risk of adverse pregnancy outcomes and birth defects reporting in women exposed to ganciclovir or valganciclovir during pregnancy: a pharmacovigilance study. *J Antimicrob Chemother.* 2023 May 3;78(5):1265-1269. doi: 10.1093/jac/dkad087. PMID: 36964746

T César , Minh P Le , R Klifa¹, M Castelle , B Fournier , R Lévy , M Chbihi , V Courteille , D Moshous , S Blanche , M Alligon , M Leruez-Ville , G Peytavin , P Frange , B Neven. Letermovir for CMV Prophylaxis in Very High-Risk Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients for Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2023 Dec 20;44(1):6.doi: 10.1007/s10875-023-01617-1.

Fourgeaud J, Nguyen CÂ, Guilleminot T, Ville Y, Leruez-Ville M. Comparison of two serological screening strategies for cytomegalovirus primary infection in the first trimester of pregnancy. *J Clin Virol.* 2023 Dec;169:105614. doi: 10.1016/j.jcv.2023.105614. Epub 2023 Oct 24. PMID: 37982548

Chatzakis C, Shahar-Nissan K, Faure-Bardon V, Picone O, Hadar E, Amir J, Egloff C, Vivanti A, Sotiriadis A, Leruez-Ville M, Ville Y. The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2024 Feb;230 (2):109-117.e2. doi: 10.1016/j.ajog.2023.07.022. Epub 2023 Jul 18. PMID: 37473793 Review

Fourgeaud J, Magny JF, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, Benard M, Pinquier D, Minodier P, Astruc D, Patural H, Ugolin M, Parat S, Guillois B, Garenne A, Guilleminot T, Parodi M, Bussières L, Ville Y, Leruez-Ville M. Predictors of the outcome at 2 years in neonates with congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics*, 2024 Mar 15:e2023063531. doi: 10.1542/peds.2023-063531

M Leruez-Ville, C Chatzakis, D Lilleri, D Blazquez-Gamero, A Alarcon, N Bourgon, I Foulon, J Fourgeaud, A Gonçalves, C E. Jones, P Klapper, A Krom, T Lazzarotto, H Lyall, P Paixao, V Papaevangelou, E Puchhammer, G Sourvinos, P Vallely, Y Ville, A Vossen. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European Congenital Infection initiative (ECCI). *The Lancet Regional Health - Europe*, mars 2024 (sous presse).

Publications nationales

Bébéar C, Benhaddou N, Boutolleau D, Berçot B, Desoubeaux G, Dupin N, Grange P, Lepiller Q, Peuchant O, Pereyre S, Prétet JL. Diagnostic biologique des infections sexuellement transmissibles - Recommandations de prise en charge du VIH, des hépatites virales et des IST - Rapport d'experts sous la direction du Pr Pierre Delobel. CNS et ANRS-MIE (Ed) 2024 (sous presse).

Burrel S, Boutolleau D. Diagnostic microbiologique d'une infection virale de surface oculaire. In Rapport de la Société Française d'ophtalmologie ; 2024 (sous presse).

Boutolleau D, Burrel S. Virologie appliquée aux infections oculaires (hors méthodes diagnostiques). Rapport de la Société Française d'ophtalmologie ; 2024 (sous presse).

Communications internationales

Gomez-Mayeras M, Andouard D, Garnier-Geoffroy F, Cournède A, Peytavin G, Le Goff J, Feghouli L, Laval L, Bressollette-Bodin C, Germi R, Boutolleau D, Hantz S, Alain S. Updated epidemiology of cytomegalovirus resistance to letermovir in France. 25th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Milan, Italie. 30 août - 2 septembre 2023

Burrel S, Boizeau L, Demontant V, Caillault A, Rodriguez C, Boutolleau D, on behalf on the HSV VZV French Study Group. Viral and human transcriptomic investigation of cerebrospinal fluid specimens from patients with herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections of the central nervous system. 25th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Milan, Italie. 30 août - 2 septembre 2023.

Guilleminot T, Leruez-Ville M, Fourgeaud J Evaluation of the performance of the Alinity m CMV assay for the detection of congenital CMV infection in amniotic fluids and saliva. 25th Annual Conference of the European Society for Clinical Virology. Milan 30 aout –2 septembre 2023.

J. Fourgeaud et al. A tool to date maternal primary infection and evaluate the risk of vertical transmission. 3rd Congress on Congenital Cytomegalovirus, Naples, Italy, 23-24 November 2023

Communications nationales

Boutolleau D, L'Honneur AS, Germi R, Chanzy B, Archimbaud-Jallat C, Béna C, Gauthier D, Raimbourg JC, Thibault V. Charge virale plasmatique du CMV : le rendu en UI/mL ne suffit pas pour comparer les valeurs entre laboratoires. 43^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 18 - 19 décembre 2023.

Boutolleau D, Leducq V, Bomme O, Fernandez J, Burrel S. Technologie de séquençage nouvelle génération Oxford Nanopore pour le diagnostic de la résistance du cytomegalovirus aux antiviraux. 43^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 18 - 19 décembre 2023.

Guiraud V, Thévent H, Boutolleau D. Une ADNémie VZV est détectable dans la semaine précédant le zona. 43^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 18 - 19 décembre 2023.

Conférences sur invitation

Alain S. FMC, Clinical Pearls for Managing CMV in HCT Recipients: Combatting Refractory or Resistant Infections, European Bone marrow Transplant Congress (EBMT), Paris Avril 2023

Alain S. CMV Symposium « How do I manage refractory/resistant infections, clinical cases » Barcelone University 11 mai 2023.

Alain S. ESOT Pre Congress Education Course : « Prevention and management of Antimicrobial resistance Focused on antiviral resistance » Athens 16 sept 2023.

Alain S. SFT « Données de résistance aux antiviraux en France » Symposium. Brest, 2023

Alain S. ESOT CMV course: CMV CMV DNAemia, viremia, RNAemia, which test and when ? Milan 5 oct 2023

Alain S. EBMT RMEI (FMC) symposium « Refractory and resistant CMV in HCT patients. Paris déc 2023.

Boutolleau D. Diagnostic et suivi d'une infection par le CMV en greffe d'organe solide : exemple et recommandations. BIOMED-J 2022. Paris, France. 19 mars 2023.

Boutolleau D. Etude nationale sur les infections neuroméningées par HSV et VZV. BioFire panel : Quel positionnement ? Quelles bonnes pratiques ? Journées approche syndromique BioFire. Lyon, France. 18 - 19 septembre 2023.

M Leruez-Ville. CMV pendant la grossesse: nouvelle prise en charge thérapeutique. Journée de Biologie Clinique Necker-Pasteur 30-31 Janvier 2023

M Leruez-Ville. Cytomegalovirus infection in pregnancy and in the newborns. ECCMID, Copenhagen, 15-18 avril 2023

M Leruez-Ville. CMV serology in pregnancy. ECSV-ECCI Workshop on cytomegalovirus infection. Crete, 27-28 April 2023

M. Leruez-Ville. Congenital CMV; advances and challenges. Infectious Diseases Symposium: Innovative Approaches to Diagnostics and Research, Bar Ilan University, Ramat gan, Israel, 5-7 September 2023

M Leruez-Ville. CMV Infections in Populations of Seronegative and Seropositive Women European perspective. CMV Vaccine Workshop. NIH; Washington, September 2023

M. Leruez-Ville. Congenital CNS viral infections: Focus on HCMV infection impact on the developing brain. Atelier virus et cerveau Institut Pasteur- ANRS-MIE 20 novembre 2023

M.Leruez-Ville. Maternal serologies made (more or less) easy. 3rd Congress on Congenital Cytomegalovirus, 23-24 November 2023 Naples, Italy

J. Fourgeaud. Chorionic villus sampling or amniocentesis for prenatal diagnosis? 3rd Congress on Congenital Cytomegalovirus, Naples, Italy, 23-24 November 2023

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

Non concernés

8. Programme d'activité pour les années suivantes

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Développement technologique envisagé

- **Développement d'un test de sérologie discriminative** sur puce pour distinguer les réinfections et les réactivations. A ce jour, la moitié des nouveaux nés infectés en France sont nés de mères séropositives avant la grossesse (cf cohortes du LA Necker) et il devient indispensable de pouvoir bénéficier d'un test performant pour établir ce diagnostic
- **Base de données de référence pour le CMV adaptée en temps réel sur le modèle de la base de Stanford.** Dans un contexte très favorable, où nous avons un accès facile et rapide à la plateforme de séquence du Laboratoire de Biologie du CHU de Limoges, et une équipe de bioinformaticiens spécialisés en microbiologie, incluant V. Tilloy nous avons validé et ouvert à l'accès libre la base de données des mutations du CNR. Couplée à un logiciel de génotypage, et associée à un groupe de travail regroupant les experts au niveau international, nous ambitionnons d'en faire une référence pour le CMV. Les données sont directement issues des travaux du groupes international et régulièrement revues au sein du groupe de travail. Une extension prochaine vers HSV et VZV avec le centre de Lyon incluant les experts HSV-VZV du CNR (Pitié) est prévue.
- **Développement des méthodes de génotypage vers du NGS à débit rapide**, en optimisant nos techniques de PCR, pour augmenter leur sensibilité en conservant une haute fiabilité. L'objectif est à terme de développer une plate-forme nationale référente de NGS pour le génotypage du CMV, grâce au plateau technique dont nous disposons (Next Seq, Mi Seq et Proton) pour diminuer sensiblement les coûts du séquençage (5 gènes soit plus de 10kb à séquencer pour chaque prélèvement si l'on veut détecter toutes les mutations) optimiser les coûts en réactifs et donc pouvoir conserver une réponse en temps réel (3 à 5 jours) vers les cliniciens qui suivent ces patients fragiles.
- Nous avons également accompagné d'autres centres, apporté les pipelines bioinformatiques du CNR et organisé une évaluation inter-laboratoires (Truffot et al. RICAI 2023 et in press). Sur cette plateforme, nous développerons également le **génotypage HSV et VZV en NGS** pour harmoniser nos pratiques avec nos collègues de la Pitié-Salpêtrière.
- **Compléter l'offre d'évaluation immune** des patients par la mise à disposition de la charge virale TTV et l'adaptation au CNR du test ELISPOT CMV dont les performances en termes de prédition d'infection à CMV sont plutôt meilleures en allogreffe de cellules souches. Ces techniques sont encore peu développées et de nombreux centres n'y ayant pas accès, nous les mettrons en place, le temps nécessaire pour aider les services à acquérir l'expertise et à la développer eux-mêmes, comme nous le faisons pour le test Quantiféron CMV.

Travaux de recherche envisagés

Le Laboratoire de Limoges poursuivra ses travaux de recherche *in vitro ex vivo et in vivo* sur les modèles d'infection congénitale à CMV, avec notamment, sur les mécanismes d'action des antiviraux et des anticorps dans le placenta et sur le fitness et la physiopathologie des souches d'infection congénitale responsables ou non de symptomatologie.

Projets sur la résistance du CMV aux antiviraux et les nouveaux antiviraux :

- Évaluation d'un **nouvel inhibiteur de l'ADN polymérase du CMV** administré sous forme de prodrogue et ayant montré une bonne efficacité et une faible toxicité dans les modèles placentaires d'histoculture du CNR. Sa barrière génétique et son mécanisme d'action précis seront évalués ainsi que son index thérapeutique en modèle *in vivo*. Ce travail est mené en collaboration avec l'équipe ICOA de l'IRCER à l'Université d'Orléans et a obtenu un **financement ANR en 2023**
- **Analyse fine du mécanisme d'action du Ietermovir et du maribavir** et notamment les conséquences d'une suspension thérapeutique ou d'une confrontation à une très forte charge virale. L'efficacité de ces molécules a déjà été démontrée dans notre modèle, mais sa faible barrière génétique peut faire craindre une émergence rapide de résistance en présence d'une forte charge virale fœtale.

- Poursuite des travaux de caractérisation des nouvelles mutations in silico et par phénotype sur virus recombinant et le développement des modèles in silico des différentes protéines-cible des antiviraux.

Projets sur l'infection congénitale à CMV :

Poursuite de nos travaux sur **l'épidémiologie moléculaire des cibles vaccinales du CMV** en population générale, en vue de l'arrivée prochaine et espérée d'un vaccin ARNm. En particulier, nous entreprendrons le séquençage des souches isolées de la salive des enfants de l'étude CrechMV, conservées dans cet objectif.

Projet sur la réactivation du CMV chez le greffé rénal

Nous participons au **projet européen Horus** coordonné par le Dr Hannah KAMINSKI qui a commencé en 2023 avec pour objectif de définir les facteurs conduisant à la réactivation du CMV dans le greffon rénal et d'analyser les facteurs virologiques associés aux infections persistantes à CMV par séquençage du génome entier, à adapter à de faibles charges virales.

Réseau de partenaires et collaborations à constituer ou renforcer

Surveillance de la résistance aux antiviraux

Le réseau doit donc évoluer dans sa forme et dans le recueil de données. Plusieurs laboratoires nous ont déjà sollicités. La base de données résistance est une base interrogative (recherche de mutations) et base déclarative pour signaler des mutations. Elle va évoluer pour intégrer des séquences au format Fasta ou au format NGS consensus. Ce format permettra au laboratoire CNR de jouer son rôle de laboratoire centralisateur dans la surveillance des résistances afin que tous les centres réalisant le génotypage de résistance puissent contribuer à alimenter la surveillance épidémiologique nationale.

Le projet Aspi CMV, faisant suite à AspiCov permet l'analyse en temps réel des séquences envoyées sur le site du CNR pour les laboratoires en exprimant le besoin, mais aussi leur intégration dans la GenBank mentionnant la propriété du laboratoire et leur indexation dans la base de séquences du CNR. Ceci augmente déjà la charge de travail du bioinformaticien du CNR et des biologistes.

Infection materno-fœtale à CMV

L'augmentation attendue du dépistage CMV chez la femme enceinte mais aussi chez les nouveaux nés (cf HCERES 2018 implémentant le dépistage devant tout déficit auditif même unilatéral et conséquence de l'augmentation du dépistage maternel), bien qu'accompagnée par le CNR, justifiera très rapidement une évaluation des pratiques mais aussi des résultats en nombre de cas et d'enfants ou de mères traitées, ainsi que le suivi des enfants traités en vie réelle. La base déclarative du CNR qui recueille les données de la mère et de l'enfant est donc un outil essentiel pour la surveillance de ces évolutions (voir bilan). L'objectif est d'atteindre une représentativité encore plus large en intégrant quelques grands centres qui ne nous déclarent pas encore leurs infections et en facilitant le recueil des consentements.

La base de données CMV congénital est totalement protégée et anonymisée et peut donc être accessible pour les déclarations d'autres pays d'Europe.

Un contrôle de qualité des méthodes de détection du CMV dans le liquide amniotique est programmé en 2024 car non disponible chez les distributeurs de contrôles de qualité.

Travaux d'évaluations de techniques envisagés

- ✓ Evaluation des plate-formes de séquençage MGI versus Illumina et Nanopore Minlon pour le génotypage CMV et le séquençage de longs fragments. (Sur Bacmides (sensibilité/spécificité) et sur échantillons (2023-2024) dans le cadre d'un marché national UniHA.

Laboratoire CNR associé Necker :

DEVELOPPEMENT TECHNOLOGIQUE

Outils sérologiques

- Poursuite de l'expertise sur l'avidité des IgG Abbott commencée depuis 2022 avec publication, après finalisation, des résultats d'avidité obtenus chez 54 femmes ayant fait une primo-infection (cf paragraphe 2.2.1)
- Etude du risque de transmission verticale en fonction des valeurs d'avidité au 1^{er} trimestre

Dans cette étude nous allons évaluer le risque de transmission (PCR CMV positive ou non dans le liquide amniotique à l'amniocentèse) en fonction des valeurs de l'avidité de 3 techniques (Vidas, Liaison et Abbott) et de l'âge gestationnel au prélèvement. Cette étude sera faite à partir des résultats obtenus dans le laboratoire dans une cohorte de 250 femmes ayant fait une primo-infection à CMV au 1^{er} trimestre et n'ayant pas reçu de valaciclovir en préventif et dans une cohorte de 238 femmes ayant fait une primo-infection à CMV au 1^{er} trimestre et qui ont reçu du valaciclovir.

- Validation prospective du système expert d'interprétation des sérologies (cf paragraphe 2.2.2) dans 3 centres.

Poursuite du développement d'une technique de séquençage à haut débit du génome entier du CMV dans le cadre de l'analyse fine des souches et du développement du génotypage des gènes de résistance du CMV aux antiviraux (voir paragraphe 2.1.1)

ACTIVITE DE CONSEIL

Dans la suite de la publication des recommandations Européennes pour la prise en charge de l'infection congénitale à CMV sous l'égide de l'ECCI/ESCV (2023) (M Leruez-Ville et al, 2024), nous allons réunir un groupe d'experts français multidisciplinaires en vue de la rédaction de recommandations françaises sous l'égide de différentes sociétés savantes.

Par ailleurs, nous souhaitons diffuser les connaissances notamment concernant l'interprétation des sérologies auprès de nos collègues biologistes. Un cours sur l'interprétation des sérologies fait partie du MOOC qui est en accès libre et dont le lien a été mis sur le site du CNR. Par ailleurs, nous avons prévu en avril 2024 un webinar de formation continue ciblé sur le diagnostic biologique du CMV congénital sur le site de VISIO qui est un journal en ligne avec un accès gratuit. Le lien de ce Webinar pourra aussi être mis sur le site du CNR

ACTIVITE DE RECHERCHE

Poursuite des 3 protocoles de recherche en cours (voir paragraphe : activités de recherche en cours)

-Cymeval III : inclusions prévues sur 3 ans (novembre 2023-novembre 2026)

-Lucy : début des inclusions juin 2024

-Cyme-immune :

- ✓ Fin des inclusions et du suivi de fin de grossesse (décembre 2024)
- ✓ Réalisation des PCR CMV dans tous les aliquots de sang total (fin 2024)
- ✓ Etude ancillaire 1 (2024/2025) : séquençage à haut débit du génome entier des souches de CMV responsables d'infection fœtale dans la suite d'une infection maternelle non primaire dans les prélèvements fœtaux et maternels. L'hypothèse est que la comparaison de la diversité génétique inter hôte entre des prélèvements maternels et fœtaux permettra de démontrer l'origine de l'infection maternelle non primaire entre réactivation ou réinfection. Ce projet est fait en collaboration avec le groupe du Pr Judith Breuer (Division of Infection and Immunity – University College of London Great Ormond Street Institute of Child Health).
- ✓ Etude ancillaire 2 (2025) : comparaison de la réponse immunitaire i) entre les femmes pré-immunes ayant transmis le virus et de celles ne l'ayant pas transmis ii) entre les femmes préimmunes ayant une charge virale dans les urines positives au 1^{er} trimestre avec des femmes témoins pré immunes n'ayant pas de virus dans les urines ni d'IgM positives au 1^{er} trimestre de la grossesse. Financement à trouver.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

DEVELOPPEMENT TECHNOLOGIQUE

Développement des tests génotypiques de résistance des herpès-virus aux antiviraux sur la plateforme iSeq 100 (Illumina) pour le CMV (en collaboration avec les Drs Jacques Fourgeaud et M. Leruez-Ville du CNR associé de Necker, dans le cadre du PHRC LUCY ; cf. supra), ainsi que pour les HSV et pour le VZV.

ACTIVITE DE CONSEIL

Poursuite de la coordination de l'écriture de recommandations nationales pour la mesure de la synthèse intrathécale et intraoculaire (SIT/SIO) des anticorps viraux.

ACTIVITE DE SURVEILLANCE

Poursuite des discussions avec SpF pour optimiser le recensement national des encéphalites herpétiques.

ACTIVITE DE RECHERCHE

▪ **PHRC PTH2 : Preemptive treatment with acyclovir in intubated and mechanically ventilated patients with Herpes simplex virus oropharyngeal reactivation and one or less organ**

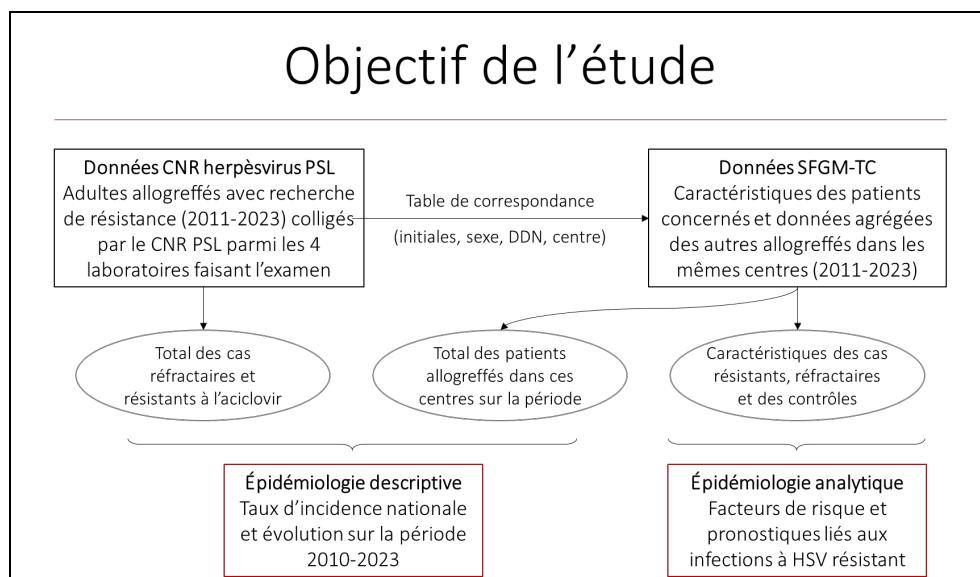
Le PHRC PTH avait montré que chez les patients intubés/ventilés depuis au moins 96h et présentant une réactivation oropharyngée du HSV-1, un traitement préemptif par aciclovir intraveineux semblait améliorer l'évolution clinique des patients les moins gravement atteints (une seule défaillance d'organe au maximum), mais sans différence significative par rapport aux patients recevant un placebo (Luyt et al., *JAMA Intern Med*, 2019). Un nouveau PHRC similaire à PTH (investigateur principal : Pr CE Luyt) va donc être mené uniquement chez ce type de patients. Comme pour le PHRC PTH, le critère principal d'évaluation sera le nombre de jours vivants sans ventilation mécanique à J60 après la randomisation (aciclovir/placebo). Un total de 246 patients seront inclus. Les prélèvements de gorge et les aspirations trachéales seront effectués à J3, 7, 10, 14, 17, 21 et 28 post-randomisation. L'ensemble des prélèvements respiratoires seront centralisés au niveau du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière pour effectuer les PCR HSV-1 quantitatives. Les inclusions vont commencer en avril 2024.

▪ **Etude du biomarqueur TTV dans la survenue des infections par HSV-1 chez les patients hospitalisés en réanimation sous ventilation mécanique**

Le HSV-1 est un membre de la famille des *Herpesviridae* qui, après une primo-infection qui survient généralement dans l'enfance, persiste à l'état latent dans l'organisme humain. Ce virus est largement répandu dans la population générale adulte. En France, la séroprévalence est de l'ordre de 60% à 70%. Chez les patients immunocompétents hospitalisés en réanimation sous ventilation mécanique, on observe généralement, après une phase initiale inflammatoire (déclenchée par la maladie qui a amené le malade en réanimation) un phase anti-inflammatoire avec immunoparalysie (*Hotchkiss et al.*, 2013). Cette période d'immunoparalysie est propice à la réactivation du HSV-1. La réactivation du HSV-1 au niveau de la gorge concerne 20% à 50% des patients sous ventilation mécanique. Elle peut conduire à une atteinte respiratoire descendante avec développement d'une pneumopathie herpétique chez 20% à 30% des patients (*Luyt et al.*, 2007). Afin de mieux identifier les patients à risque de réactivation virale avec possible atteinte pulmonaire, il faudrait disposer d'un biomarqueur prédictif. Le Torque Teno Virus (TTV) est un Anellovirus qui constitue un biomarqueur du système immunitaire des patients. La charge TTV sanguine permet notamment d'identifier les patients greffés d'organe solide à risque de rejet du greffon ou d'infections opportunistes (*Gore et al.*, 2023 ; *van Rijn et al.*, 2023). Dans la suite des études PTH et PTH2, nous souhaitons donc étudier le comportement du TTV chez les patients hospitalisés en réanimation sous ventilation mécanique et le lien qu'il pourrait exister entre TTV et les réactivations du HSV-1. Pour cela, nous allons quantifier le TTV dans le sang et le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LBA) de ces patients. Nous allons effectuer une étude rétrospective chez différents groupes de patients bien caractérisés (n=75) : patients avec réactivation du HSV-1 et pneumopathie associée, patients avec réactivation du HSV-1 sans pneumopathie associée, patients sans pneumopathie virale. La cinétique de charge virale TTV sera étudiée sur plusieurs prélèvements de sang et de LBA pour chaque patients (n=184). Nous pourrons ainsi étudier l'intérêt potentiel du biomarqueur TTV dans ce contexte.

- **Etude nationale de la résistance des HSV aux antiviraux en greffe de cellules souches hématopoïétiques**

Cette étude nationale rétrospective (2011-2023) a pour but de caractériser en France la prévalence et l'incidence de la résistance des HSV aux antiviraux chez les patients adultes allogreffés de cellules souches hématopoïétiques, ainsi que les facteurs de risque de cette émergence de résistance et le pronostic associé. Les investigateurs de cette étude sont le Dr David BOUTOLLEAU (CNR Herpèsvirus) et le Dr Léo SALLEE (Hématologie Clinique). Cette étude a reçu un avis favorable de la part du conseil scientifique de la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC). Le projet a également été soumis au comité d'éthique de la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF).



Pour cette étude, les données de recherche de résistance des HSV aux antiviraux chez les allogreffés adultes de CSH colligées par les 4 laboratoires effectuant cette analyse (Hôpital Saint-Louis (Pr Jérôme LeGoff), Hôpitaux Civils de Lyon (Dr Emilie Frobert et Pr Florence Morfin), CHU de Limoges (Pr Sébastien Hantz), et Hôpital Pitié-Salpêtrière (Dr David BOUTOLLEAU)) seront croisées avec les données démographiques, cliniques et biologiques des patients de la base de données *EBMT Registry*. Un dossier est en cours de rédaction avec l'URC de l'AP-HP pour demander les autorisations nécessaires auprès de la CNIL.

- **Caractérisation du rôle des mutations non connues des HSV dans la survenue de la résistance aux antiviraux**

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière dispose de 2 techniques pour caractériser le rôle de mutations non connues dans la thymidine kinase des HSV dans la survenue de résistance à l'aciclovir : étude de l'activité fonctionnelle *in vitro* de TK recombinante (Burrel et al., *Antiviral Res* 2012) et utilisation de virus recombinant en utilisant la technologie BAC (Robinet-Perrin et al., *Antiviral Res* 2019). Nous souhaitons désormais utiliser la technologie CRISPR/Cas9 dans ce domaine. Ce travail a été initié en collaboration avec le Pr Sonia Burrel (désormais au CHU de Bordeaux).

- **Résistance du CMV aux antiviraux en greffe pulmonaire**

Cette étude fait l'objet de la Thèse de Médecine de Camille Bonte encadré par le Dr Vincent Bunel-Gourdy (Service de pneumologie, hôpital Bichat). Il s'agit d'une étude rétrospective (2012-2022) de la résistance du CMV aux antiviraux en transplantation pulmonaire dans 4 centres parisiens : Bichat (Dr Vincent Bunel-Gourdy), Cochin (Pr Nicolas Roche), Marie Lannelongue (Dr Gaëlle Dauprat) et Foch (Pr Antoine Roux). Les laboratoires de virologie participants, qui effectuent les recherches de résistance du CMV aux antiviraux pour ces centres, sont le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière (Dr David Boutolleau et le CNR coordonnateur de Limoges (Pr Sophie Alain)). Au total, les résultats de 100 échantillons provenant de 57 patients distincts vont être analysés.

- **Infections graves par les herpèsvirus**

Un défaut de synthèse d'origine génétique des interférons (IFN) de type I peut constituer un facteur de prédisposition pour certaines maladies virales (*Mogensen, Clin Microbiol Infect, 2022*). C'est notamment le cas des défauts de synthèse d'IFN I liés à une atteinte de la voie TLR3 (*Zhang, Human Genetics, 2020*). Par ailleurs, l'équipe de Jean-Laurent Casanova a également montré que dans les formes graves de COVID-19, l'absence de réponse IFN pouvait également être due à la présence d'auto-anticorps anti-IFN chez le patient (*Bastard et al., Sci Immunol, 2021*). En collaboration avec le Dr Paul Bastard et le Dr Emmanuelle Jouanguy (Institut Imagine, Necker), nous allons étudier la présence d'auto-anticorps anti-IFN de type I dans les infections graves dues aux herpèsvirus (maladie à CMV, infections neurologiques, hépatites sévères, infections généralisées...).

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Les missions du CNR Herpesvirus sont orientées en priorité sur le Cytomégalovirus (CMV) et les alpha herpesvirus (HSV et VZV). La configuration proposée en 2016 ayant fait la preuve de son efficacité, nous avons choisi de la reconduire sans modification pour le nouveau mandat 2022-2027. Le CNR comporte donc trois laboratoires reconnus au niveau national et international pour leurs compétences dans ce domaine : un laboratoire CNR, au CHU de Limoges, laboratoire fondateur du CNR cytomégalovirus en 2006, en pointe sur l'épidémiologie des infections à CMV et leur prise en charge notamment chez les patients immunodéprimés et leader sur la résistance aux antiviraux, et deux laboratoires associés. Le laboratoire de virologie du CHU Necker, à Paris, qui fait partie du CNR depuis sa fondation, leader dans la prise en charge des infections congénitales à CMV assume les missions plus spécifiques à l'infection congénitale à CMV. Le laboratoire du CHU Pitié Salpêtrière, Paris, a rejoint le CNR en 2016 pour assurer les missions concernant HSV et VZV a mis en place pendant le mandat précédent un réseau de surveillance des résistances des HSV et VZV aux antiviraux et une surveillance des infections neuroméningées à HSV et VZV. Ces deux bases de données viennent compléter les surveillances historiquement mises en place par le laboratoire CNR concernant les infections congénitales à CMV en collaboration avec le laboratoire associé Necker, et les résistances aux anti-CMV depuis 2006, ainsi que la surveillance les infections néonatales à Herpes simplex depuis 2012, pour répondre à l'évolution des missions du CNR en 2012. Les missions de conseil concernant les infections graves aux autres herpesvirus (Varicelle, HHV6, EBV) sont assurées par les laboratoires du CNR avec l'aide du laboratoire référent national pour EBV au CHU de Grenoble.

La mission de coordination est assurée par le laboratoire de virologie du CHU de Limoges.

Pour des raisons d'organisation pratique territoriale et de charge de travail, les activités diagnostiques et de conseil resteront partagées entre les différents laboratoires. La liste des techniques disponibles dans les différents laboratoires est disponible sur le site du CNR et au chapitre « capacités techniques du laboratoire » du présent document.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Médecins biologistes :

Pr Sophie ALAIN : Directeur du CNR Herpesvirus (0,45 ETP pour le CNR ; financement : hôpital et université)

Pr Sébastien HANTZ : Directeur adjoint (0,2 ETP pour le CNR ; financement : hôpital et université)

Médecin Gynécologue Obstétricien :

Dr Perrine COSTE-MAZEAU : Hôpital Mère Enfant, CHU de Limoges (financement : hôpital)

Technicien :

1 ETP Technicien CDD financé sur la MIG CNR Maladies transmissibles : **Fatoumata CONDET** : Réception, enregistrement, analyses (génotypes de résistance CMV, HSV et VZV en Sanger, tests Quantiféron, avidités CMV, PCRs TTV, PCR CMV demandées par les laboratoires extérieurs au CNR, PCRs HSV sur échantillons extérieurs, recherche des HHV6 intégrés)

Ingénieurs :

- 1 ETP CDI financé sur les crédits MIG CNR : **Melissa GOMES-MAYERAS**

- Recherches de résistance par NGS, tests sur carton de Guthrie. Réalisation des évaluations de techniques. Développe les techniques NGS.
- 1 ETP CDI Ingénieur bioinformaticien : **Valentin TILLOY** depuis juillet 2016
En charge du développement des pipe-lines et de l'analyse des données de séquence et de la mise à disposition des séquences sur la GenBank. Mise en ligne et entretien de la base de données de résistance sur le nouveau site internet.
 - 1,3 ETP Ingénieur de recherche clinique :
Françoise GARNIER (0,5 ETP CDI) financée par la MIG CNR depuis 2017. Surveillance des bases de données cliniques sur la résistance, enquêtes du CNR en greffe de cellules souches, et transplantation d'organe, cohorte NaViRe en cours d'inclusion.
Elodie RIBOT (0,8 ETP CDI) Surveillance des infections congénitales à CMV avec le laboratoire associé Necker, et des infections néonatales à HSV, gestion des bases de données nationales. Responsable du site internet pour les trois laboratoires.
 - Pour assurer l'analyse des résultats issus des bases de données et des enquêtes concourant à la surveillance pour l'ensemble du CNR, nous demandons 0,2 ETP de biostatisticiens. La personne sera recrutée sur le pool du CHU.

Laboratoire CNR associé Necker :

Dr Marianne LERUEZ-VILLE responsable laboratoire associé rémunérée par l'Hôpital Necker, 30% activité dévolue au CNR,

Dr Jacques FOURGEAUD, adjoint laboratoire associé rémunéré par l'Hôpital Necker et l'Université Paris Cité, 25% d'activité dévolue au CNR,

Dr Nicolas VEYRENCHÉ: praticien contractuel : rémunéré à 20% par le CNR,

Mme Tiffany GUILLEMINOT : rémunérée à 100% CNR, 100% d'activité dévolue au CNR.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Dr David BOUTOLLEAU (MCU-PH, service de virologie) : responsable du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière (0,5 ETP ; financement : hôpital et université)

José FERNANDEZ : ingénieur d'études du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière (1,0 ETP ; financement : subvention allouée par SpF)

Techniciens AP-HP du laboratoire de virologie (2,0 ETP ; financement : hôpital)

1.3 Locaux et équipements

Pas de changement au niveau des locaux et des équipements.

1.4 Collections de matériel biologique

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Les collections du CNR sont progressivement intégrées au Centre de Ressources Biologiques du CHU de Limoges CRBioLim certifié NF S96-900 (N°140787/1258F) pour pouvoir être cédées ou utilisées à des fins d'évaluation ou de

collaboration. Les autres échantillons sont conservés dans la collection biologique du CNR au laboratoire (N°: DC 2008_604). Les échantillons cliniques et souches issues de l'activité du laboratoire sont progressivement intégrées aux collections du CNR puis au CRBioLim. La mise à disposition se fait via le CRBiolim par création d'une sous collection et cession (Responsable de collection S Alain et gestionnaire E Ribot).

Le laboratoire CNR est le seul laboratoire en France qui isole sur fibroblastes et sur cellules endothéliales et entretient des souches de cytomégalovirus provenant de tous types de prélèvements et de patients. Ces souches sont conservées dans la collection du CNR et pour un certain nombre d'entre elles, sont caractérisées pour leur génome entier ou leur génotype gB, gH, gN. Ces souches peuvent être mises à disposition de laboratoires de recherche via le CRBioLIm.

(souligné = en évolution en 2023)

Collection biologique du CNR (laboratoire de Limoges):

- 1968 échantillons de sérum adressés pour primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont connues. Ces sérums sont conservés à -20°C.
- 129 Echantillons de sérum de primo-infection ou de réactivation positifs pour la recherche d'IgM provenant de l'hôpital Charles Nicolle à Tunis reçus en 2009 caractérisés en 2010 pour les glycoprotéines d'enveloppe gB gH gN.
- 50 urines de nouveaux-nés positives pour la recherche de CMV par culture
- 1772 salives d'enfants en crèche (PHRC Crech MV) dont 663 positives en PCR CMV et 212 caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN.
- 62 échantillons couplés de salive et de sérum prélevés sur volontaires sains, caractérisés pour la recherche du CMV salivaire et des anticorps sériques et salivaires issus du protocole ACMV.
- 1552 prélèvements spécifiques pour recherche de résistance de 2006 à 2016 caractérisés pour la séquence des gènes UL97 et UL54 dont 36 également caractérisés pour les glycoprotéines d'enveloppe gB, gH, gN.
- 3080 prélèvements spécifiques pour recherche de résistance de 2017 à 2023 caractérisés pour la séquence des gènes UL97, UL54, UL56, UL27, UL89 et UL51
- 3618 prélèvements issus de l'Observatoire des résistances 2006-2010
- 6139 prélèvements issus des 402 patients inclus dans ORPhaViC
- 1785 prélèvements de plasma ou de sang total issus du protocole Quantic R+
- 3260 prélèvements issus des 400 patients inclus dans NAVIRE
- 564 prélèvements issus des 24 patients inclus dans CIRCLE
- 33 Liquides amniotiques CMV positifs issus de cas de CMV congénital déclarés dans la base
- 6 urines de nouveau-nés CMV positives issus de cas de CMV congénital déclarés dans la base

Biothèque transférée progressivement vers la collection du CNR au sein du CRBioLim après vérification de non-opposition :

- Souches d'HSV, de VZV isolées pour typage ou reçues pour phénotype de résistance antérieures à la création du CRBioLim
- Près de 13000 échantillons de sang totaux de patients transplantés conservés à -80°C depuis 2013

Biothèque spécifique du CNR pouvant être utilisée à des fins d'expertise et conservées dans la collection du CNR au CRBioLim

- 6840 sanguins totaux CMV positif ou négatifs aliquotés et mis en collection biologique pour les évaluations de trousse de PCR.
- 2040 plasma CMV et /ou EBV positif pour évaluation des trousse de PCR
- 565 souches HSV et CMV

Détails des collections “épisode viral” et “souches” du CNR en CRBioLim:

Collection	Nombre de patients donneurs en 2023	Nombre de ressources primaires entrées en 2023	Nombre de tubes entrés en 2023	Nombre total de donneurs au 31/12/2023	Nombre total de ressources primaires au 31/12/2023	Nombre total d'échantillons au 31/12/2023	Cession: patients	Cession: ressources primaires	Cessions: échantillons	
Sang total épisode viral	0	0	0	782	3070	6840	0	0	0	
Souches CMV HSV	0	0	0	246	269	565	2	2	2	cession 2023-007
Plasma épisode viral	0	0	0	478	792	2040	0	0	0	

Détails des souches : cellules infectées conservées en azote liquide et répertoriées au CRBioLim :

- Souches de référence : AD169, Towne, Toledo, Davis et Merlin (ATCC), VHLE, TB40E (don de S Chavanas, Toulouse).
- Souches recombinantes HCMC Bacmids, marquées à la GFP, portant des mutations de résistance au ganciclovir, au cidofovir, ou au Foscarnet, au maribavir ou au letermovir ou des polymorphismes.

Un total de 565 isolats cliniques parmi lesquels :

- 72 souches à tropisme endothérial isolées d'urines de nouveau-né atteints d'infection congénitale à CMV provenant du CNR et de laboratoires extérieurs dont 10 caractérisées pour la séquence de leur génome entier par séquencage haut débit sur Ion Proton.
- 21 Souches à tropisme endothérial isolées de liquide amniotique ou de fœtus
- 72 souches à tropisme endothérial isolées essentiellement en 2008 de la salive d'enfants de moins de trois ans (protocole FreChMV)
- 17 souches de patients transplantés caractérisées pour leur phénotype de résistance au ganciclovir, cidofovir et foscarnet dont 6 pour leur sensibilité au maribavir

Parmi ces souches 41 sont caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN (21 souches d'infection congénitale à CMV), 25 pour la séquence des gènes-cible des antiviraux (UL97, UL27, UL54, UL56, UL89, UL104) et le génotype gB

- Plus de 100 souches d'HSV1 et 2 et de VZV (souches de référence et isolats cliniques) disponibles pour essais antiviraux et pour tester des procédés de décontamination.

Laboratoire CNR associé Necker :

Les prélèvements et souches de CNR sont pseudonymisés et répertoriés dans le logiciel du laboratoire puis stockés dans 2 congélateurs à -80°C, l'un situé dans le laboratoire, l'autre dans les locaux dédiés à la CRB de l'hôpital. La biothèque a fait l'objet d'une déclaration de collection biologique (N° de collection DC-2009-955).

Biothèque spécifique du CNR Necker constituée de 2006 à 2023

Biothèque propre du laboratoire de Virologie de Necker pouvant être utilisée dans le laboratoire à des fins d'expertises :

- Environ 3000 échantillons (0.5 à 2 ml) de sang total PCR CMV positive conservés à -80°C

Biothèque spécifique du CNR constituée de 2006 à 2022

- Souchothèque : cellules MRC5 infectées conservées à -80°C: **250 souches** (3 aliquots par souche) responsables d'infection materno-fœtale isolées de liquide amniotique ou d'urine de nouveau-nés.
- **Environ 3000 prélèvements de liquides amniotiques** testés en PCR CMV dont **370 positifs**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
- **157 prélèvements de sang fœtal positifs** conservés à -80°C.
- **270 échantillons d'urine PCR CMV positive** conservés à -80°C
- **16512 échantillons salivaires** obtenus de nouveau-nés et caractérisés en PCR CMV dont environ **800 positifs en PCR CMV**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C
- **1500 échantillons de sérum** obtenus chez des femmes enceintes en primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont bien répertoriées. Ces sérum sont conservés à -20°C.
- **2474 échantillons de sang séché sur carton de Guthrie** caractérisés en PCR CMV : dont 1019 PCR CMV négative provenant de nouveau-nés non infectés et **233 PCR CMV positive** obtenus de nouveau-nés infectés par le CMV. Ces échantillons sont conservés à température ambiante. Par ailleurs, depuis 2021, nous stockons dans notre laboratoire tous les cartons de Guthrie prélevés en Ile de France les années N-2 et N-3 (**soit environ 360 000 cartons de Guthrie**). En effet, le Centre Régional de Diagnostic Néonatal d'Ile de France (CRDN) stocke pendant 1 an tous les cartons et ensuite au lieu de les détruire, il nous les transfère pour stockage pendant encore 2 années consécutives. Cela nous permet de répondre aux demandes de diagnostic rétrospectif plus tardives faites pour des enfants âgés de 1 à 3 ans (soit environ 25% des demandes). Cet accord a été possible car le CRDN est localisé dans le même établissement que notre laboratoire. Pour les enfants nés dans les autres régions les cartons de Guthrie ne sont stockés qu'un an.

Possibilité de cession d'échantillons à la demande de laboratoire de biologie médicale (mis au point de technique...) ou pour des études spécifiques encadrées par un CPP.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière conserve dans une biothèque spécifique l'ensemble des prélèvements biologiques positifs en PCR HSV et en PCR VZV, ainsi que l'ensemble des prélèvements biologiques reçus au laboratoire pour effectuer une recherche de résistance des HSV, du VZV et du CMV aux antiviraux. Ces prélèvements sont conservés dans un congélateur -80°C dédié au CNR Herpèsvirus équipé d'une sonde de surveillance de la température 24h/24, 7j/7 (système Sirius) reliée à l'usine de l'hôpital. Pour l'année 2023, cela représente environ 1900 prélèvements de différentes natures (LCS, LBA, sanguins totaux, prélèvements cutanéomuqueux, prélèvements génitaux, prélèvements oculaires...) positifs pour HSV ou VZV et 297 prélèvements biologiques pour recherche de résistance des HSV, du VZV et du CMV aux antiviraux.

Le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière conserve également l'ensemble des souches de HSV-1, HSV-2 et VZV isolées en culture cellulaire à partir des prélèvements biologiques positifs en PCR diagnostique. Ces souches virales sont conservées dans un congélateur -80°C dédié au CNR Herpèsvirus équipé d'une sonde de surveillance de la température 24h/24, 7j/7 (système Sirius) reliée à l'usine de l'hôpital. Comme indiqué dans les rapports précédents, cette activité d'isolement des souches virales avait dû être momentanément suspendue du fait de la pandémie de COVID-19 et de la ré-organisation du laboratoire P2 du laboratoire de virologie pour le seul traitement des prélèvements biologiques suspectés d'être positifs pour le SARS-CoV-2. Cette activité a finalement pu être remise en place à la fin au cours du dernier trimestre 2022. Ainsi, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a pu reprendre ses activités de culture cellulaire, d'isolement de souches virales, ainsi que la réalisation de tests phénotypiques de résistance (antivirogramme) des HSV aux antiviraux (aciclovir et foscarnet) pour la caractérisation de mutations détectées par séquençage des gènes UL23 (thymidine kinase) ou UL30 (ADN polymérase) non décrites à ce jour et dont le rôle dans la résistance aux antiviraux est méconnue ; cf. infra : activité de surveillance). En 2023, 150 souches de HSV et de VZV ont été isolées et conservées.

Dans le cadre de l'étude RetroAlpha 14-18, menée auprès de 49 laboratoires de virologie de France métropolitaine et d'Outre-mer (réseau French HSV VZV Study Group) sur les infections neuroméningées dues aux alphaherpèsviruses

(HSV et VZV), une biothèque de près de 300 reliquats de prélèvements de LCS positifs en HSV-1, HSV-2 ou VZV, prélevés dans le cadre du soin médical, a pu être constituée grâce à la contribution de certains laboratoires du réseau. L'étude transcriptomique et métatranscriptomique de ces LCS a été conduite en collaboration avec le Pr Christophe RODRIGUEZ (Hôpital Henri Mondor). Cette collection biologique a fait l'objet d'une déclaration de type CODECOH auprès du ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche (DC-2022-5365).

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Les laboratoires du CNR Herpesvirus participent à différents programmes d'évaluation externe de la qualité pour les analyses entrant dans le champ d'activité du CNR :

- Sérologies herpesvirus : contrôles du CTCB et de Biologie Prospective (France)
- Détection/quantification des génomes des herpesvirus : contrôles du QCMD (Ecosse)
- Détection/quantification du génome du CMV sur carton de Guthrie : contrôles du QCMD (Ecosse)
- Résistance du CMV et des HSV aux antiviraux par test génotypique : contrôles du QCMD (Ecosse)

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Le Laboratoire de Biologie du CHU de Limoges est accrédité COFRAC à la norme 15189 depuis 2014. (N°8-2607 Rév 13). La mesure de la charge virale CMV par PCR quantitative sur sang total, la sérologie VIH sur Architect et la mesure de la charge virale VIH sur automate M2000 ont été accréditées en 2016. La portée a été étendue en 2019 à toutes les PCR herpès virus. En 2018 ont été accréditées les analyses quantitatives de charge virale du VIH, VHB, VHC et la détection des chlamydia et gonoocoques par les techniques de TMA sur Panther Hologic.

En 2021, les sérologies virales sur Liaison XL (et transfert de méthode de l'Architect sur Alinity) et le QuantiféronTM CMV ont été ajoutées à la portée d'accréditation du VIH. Par ailleurs, la plate-forme de séquençage Sanger et NGS du CHU de Limoges, à laquelle participe le CNR, est également accréditée Cofrac.

Les dossiers d'accréditation pour les PCR de séquence ont été initiés au second semestre 2022. Un audit COFRAC de validation des nouvelles techniques a été réalisé du 19 au 22 septembre 2023. Il a permis d'accréditer 2 nouvelles portées : PCR de séquence type Sanger et PCR maison en temps réel (charge virale COVID-19 IP2-IP4)

La sécurité informatique est assurée par l'utilisation du réseau sécurisé du CHU, avec une sauvegarde centralisée de toutes les données sur deux serveurs distants, et la mise à disposition d'un serveur de grand volume (NAS) pour sécuriser les données de génomique (NGS) de la plateforme diagnostique de séquençage. Toutes les analyses effectuées par le laboratoire CNR sont enregistrées et gérées dans le logiciel de laboratoire GLIMS du Laboratoire de Biologie du CHU.

Les collections du CNR (responsables Sophie Alain et Elodie Ribot) sont progressivement intégrées Centre de Ressources Biologiques du CHU de Limoges CRBioLim certifié NF S96-900 (N°140787/1258F) pour pouvoir être cédées ou utilisées à des fins d'évaluation ou de collaboration. Les échantillons en attente d'intégration sont conservés dans la collection biologique du CNR au laboratoire (N°: DC 2008_604) sécurisées avec alarme au sein du Laboratoire et gérées par le logiciel Glims et le logiciel sécurisé TDBioBank.

Laboratoire CNR associé Necker :

Le laboratoire de microbiologie de Necker participe à des contrôles de qualité externe en sérologie (contrôles CTCB et RCPAQAP) notamment pour les marqueurs CMV IgG, IgM et avidité et en biologie moléculaire (contrôle du QCMD pour tous les marqueurs de biologie moléculaire testés dans le laboratoire et notamment la PCR CMV sur sang total et sur DBS /carton) (N° de collection DC-2009-955).

Le laboratoire est accrédité COFRAC sur tous les marqueurs sérologiques (dont la sérologie CMV : IgG, IgM et avidité des IgG) et les marqueurs de biologie moléculaire (PCR CMV, PCR HIV, PCR virus des hépatites, PCR multiplex). Le laboratoire a fait deux démarches récentes d'accréditation :

-ouverture de la ligne MG06 en mars 2021 pour les techniques en NGS, un audit interne a eu lieu en mai 2022, l'audit COFRAC de validation de nouvelle ligne qui était prévu en novembre 2023 n'a pas eu lieu faute d'auditeurs COFFRAC disponibles, cette visite est reprogrammée en septembre 2024.

-ouverture en mars 2021 de la ligne BM-VB-01 en portée B en biologie moléculaire ce qui nous a permis d'accréditer à la suite de l'audit COFFRAC de novembre 2023 la technique de PCR CMV sur carton de Guthrie.

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière

Le laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière est engagé dans une démarche qualité.

De nombreux examens virologiques sont accrédités

- Sérologies des herpèsvirus (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV et EBV), HIV, HAV, HBV, HDV, HCV, rubéole
- Charges virales HIV, HBV et HCV plasmatiques
- Le séquençage pour le diagnostic génotypique de la résistance du HIV aux antirétroviraux.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Liste des techniques disponibles pour le diagnostic et l'identification des agents pathogènes et la sensibilité aux anti-infectieux

CMV

	Laboratoire Coordonnateur	Laboratoire associé Necker	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Techniques sérologiques			
Détection des IgG	LIAISON® CMV IgG II (Diasorin) Alinity CMV IgG (ABBOTT) CMV IgG Vidas bioMérieux	CMV IgG Liaison XL (Dia Sorin) CMV IgG BioMérieux Vidas	LIAISON® CMV IgG II (Diasorin) Alinity CMV IgG (ABBOTT) CMV IgG Vidas 3 BioMérieux
Mesure de l'avidité des IgG	LIAISON® XL CMV IgG II Avidity (Diasorin) VIDAS® CMV IgG Avidity II (bioMérieux)	CMV IgG Avidity II Liaison XL Diasorin CMV IgG avidity II Vidas BioMérieux CMV IgG avidity Abbott	
Détection des IgM sériques	CMV IgM Liaison XL (Diasorin)	CMV IgM Liaison XL Diasorin	LIAISON® CMV IgM II (Diasorin)
Applications	<ul style="list-style-type: none">- Détermination du statut sérologique vis-à-vis du CMV- Diagnostic de primo-infection par CMV		
Tests immunologiques	Quantiferon CMV (Qiagen/Liaison Diasorin) Mesure de la réponse immune CD8 spécifique du CMV		Quantiferon CMV (Qiagen/Liaison Diasorin) et T.SPOT CMV (Oxford Immunotec) (laboratoire d'Immunologie)
Techniques de biologie moléculaire			

Mesure de la charge virale par PCR temps réel	<p>- CMV-R gene (bioMérieux)</p> <p>- PCR CMV quantitative « maison » en place depuis 2005, utilisée comme deuxième technique en duplex avec PCR albumine (Wagner et al., 2011).</p> <p>Matrice : sang total, plasma, sérum, LCR salive, urine, liquide amniotique, biopsie de trophoblaste, carton de Guthrie</p>	<p>CMV R gene (bioMérieux)</p> <p>CMV Alinity M (Abbott)</p> <p>-PCR quantitative développée et validée dans le laboratoire depuis 2001 et utilisée en 3^{ème} technique si besoin</p> <p>Matrice : sang total, sang fœtal, plasma, sérum, salive, urine, liquide amniotique, biopsie de trophoblaste, carton de Guthrie</p>	Artus® CMV QS-RGQ (QIAGEN)
Applications :	<p>-Diagnostic de l'infection maternelle en cas d'IgM isolée à la sérologie du 1^{er} trimestre</p> <p>-Diagnostic prénatal de l'infection congénitale à CMV (sur échantillon de liquide amniotique ou sang fœtal)</p> <p>-Diagnostic néonatal de l'infection congénitale à CMV (sur échantillon de sang frais, d'urines ou de salive)</p> <p>-Diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV sur échantillon de sang séché sur carte de Guthrie (Vauloup-Fellous, J Clin Microbiol, 2007 ; Leruez-Ville, CID, 2011).</p> <p>-- Suivi des charges virales chez les immunodéprimés</p>	<p>-Suivi des charges virales chez les immunodéprimés</p> <p>-Diagnostic néonatal de l'infection congénitale à CMV (sur échantillon de sang frais, d'urines ou de salive)</p>	
Techniques de culture			
Applications	<p>Isolement et identification des souches de CMV responsables d'infection congénitales à partir des urines du nouveau-né, ou du liquide amniotique</p>		
	<p>Isolement et identification des souches de CMV responsables d'infections chez les transplantés et antivirogramme</p>		

HSV

Techniques	Laboratoire coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Détection semi-quantitative des IgG HSV-1 et HSV-2, des IgM HSV-1 et HSV-2, des IgG spécifiques HSV-1, des IgG spécifiques HSV-2	Liaison® XL HSV-1 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-2 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1/2 IgG (DiaSorin)	Liaison® XL HSV-1 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-2 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1/2 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1/2 IgM (DiaSorin)
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Détermination du statut sérologique vis-à-vis des HSV-1 et HSV-2 - Diagnostic de primo-infection HSV-1/HSV-2 - Diagnostic d'infection récurrente HSV-1/ HSV-2 - Diagnostic sérologique de la primo-infection maternelle /néonatale HSV 	
Diagnostic virologique direct : PCR, culture cellulaire		
Détection et quantification du génome des HSV-1 et HSV-2	Multiplex HSV 1-/2 /VZV (Altona) FilmArray panel ME	HSV1&2 VZV R-GENE® (BioMérieux) FilmArray panel ME Technique maison (Burrel et al., J Virol methods, 2012)
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnostic rapide des infections à HSV sur liquide céphalorachidien, humeur aqueuse (HA) ou vitrée, prélèvements génitaux des femmes en salle de travail, prélèvements de nouveau-né - Diagnostic des infections actives à HSV-1 ou HSV-2 - Quantification de la charge virale HSV dans les liquides de lavage bronchoalvéolaire (LBA) : intérêt pour la prise en charge thérapeutiques des patients intubés-ventilés (Luyt et al., Am J Resp Crit Care Med, 2007) - Quantification de la charge virale HSV dans le LCR ou HA pour suivi thérapeutique 	
Isolement des souches de HSV en culture cellulaire	Isolement des souches virales en culture de cellules Vero et fibroblastes embryonnaires humains (MRC-5) et cellules Vero Typage HSV-1/2 par immunofluorescence	
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Isolation des souches cliniques de HSV-1 et HSV-2 à partir de prélèvements biologiques positifs en PCR : prélèvements cutanéomuqueux, prélèvements génitaux, prélèvements respiratoires (LBA), liquides de ponction - Antivirogramme (aciclovir et foscarnet)^b (Burrel et al., AAC, 2010) 	

VZV

Méthode Diagnostique	Laboratoire Coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Sérologique	LIAISON® VZV IgG (DIASORIN) LIAISON® VZV IgM (DIASORIN)	LIAISON® VZV IgG (DIASORIN) LIAISON® VZV IgM (DIASORIN)
PCR qualitative (PCR en temps reel)	Multiplex HSV1-2/VZV (Altona)	
Charge virale (PCR en temps reel)		HSV1&2 VZV R-GENE® (BioMérieux)
Culture cellulaire	Isolement des souches virales en culture de cellules MRC5	Isolement des souches virales en culture de cellules Vero et MRC5

Liste des techniques disponibles pour le typage, en particulier en termes de séquençage génomique

Génotypes de résistance et marqueurs épidémiologiques permettant le typage des souches, l'identification de clusters et l'identification des souches transmises lors de cas groupés

Techniques CMV	Laboratoire coordonnateur	Laboratoire associé Necker-Enfants-malades	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Génotype gB	+ ^h	+	
Génotype gH	+ ^h		
Génotype gN	+ ^h		
Génotype UL144		+	
Analyse des microsatellites		+	
Analyse du profil UL10-11-12-13	+		
Polymorphisme des séquences de jonction « a »	+		
Génotypage de résistance au ganciclovir, cidofovir foscarinet (UL97-UL54) maribavir (UL97-UL27), letermovir (UL56-UL89-UL51).	Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD) UL97, UL54 ^{a,b} UL27 ^c UL56 , UL89 ^{d,e} , UL51, UL52	Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer UL97, UL54 ^f UL56 et UL89 ^g	
Séquence NGS	Séquençage NGS sur Proton S5 (Life technologies) et sur Illumina	Séquençage whole genome en cours de Développement (mise en application prévu pour fin 2024)	GridION (Oxford Nanopore Technologies) et iSeq 100 (Illumina)
Génotype de résistance			
Génome entier à visée épidémiologique			

Méthodes publiées : a : Alain et al, Vir Meth 2004 ; b : Hantz et al., JAC 2010 ; c : Hantz et al., Antiviral Ther. 2009 ; d,e : Champier et al., Antivir Ther. 2007, Champier et al., Antivir Ther. 2008 ; f : Boutolleau et al., Antiviral Res, 2009 ; Boutolleau et al., Antiviral res, 2011 ; g : Pilorgé et al., Antiviral Res, 2014 ; h : Grosjean et al. J clin Virol. 2014. ;

Techniques HSV	Laboratoire coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Diagnostic de la résistance aux antiviraux		
Méthode génotypique Séquençage Sanger NGS	Séquençage Sanger sur ABI 3500xl Dx Genetic Analyzer gènes UL23 et UL30 ^b Génome entier : Proton system (Ion Torrent)	Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 genetic analyzer gènes UL23 et UL30 ^b gènes UL5 et UL52 ^c GridION (Oxford Nanopore Technologies) et iSeq 100 (Illumina)
Méthode phénotypique	Détermination de la résistance à l'aciclovir et au foscarnet par méthode de réduction du nombre de plages de lyse (antivirogramme)	
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Identification des souches de HSV-1 et HSV-2 responsables d'infections résistantes aux antiviraux UL23 et UL 30 pour ACV, FOS et CDV UL5 et UL52 pour aménamévir et pritélivir 	

^b : Burrel et al., Antimicrob Agents Chemother, 2010, ^cCollot et al., Antiviral Res, 2016

Ces différentes techniques diagnostiques sont évaluées par des contrôles externes de qualité dispensés par des organismes (QCMD, CTCB, ANSM) ou échangés entre laboratoires (EIL) au niveau national ou européen.

Méthodes de typage des souches

Laboratoire coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Polymorphisme des gènes (Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD)) : UL23 (TK) [HSV-1/2] UL30 (ADN polymérase) [HSV-1/2]	Séquençage de gènes : UL23 (TK) [HSV-1/2] UL30 (ADN polymérase) [HSV-1/2] UL5 (hélicase) [HSV-1/2] UL30 (primase) [HSV-1/2] UL42 (facteur de processivité) [HSV-1/2] ^d US4 (gG) [HSV-2] ^e US6 (gD) [HSV-2] ^e UL1 (gL) [HSV-2] ^e UL22 (gH) [HSV-2] ^e UL27 (gB) [HSV-2] ^e Séquençage du génome entier [HSV-1/2] ^f Polymorphisme des microsatellites du HSV-1 et du HSV-2 (analyse de longueur de fragments) ^g Identification du HSV-2 ancestral (HSV-2 variant : HSV-2v) ^e
Séquençage du génome entier sur isolat (NGS Ion Torrent technologie)	

^dBurrel et al., Antiviral Res, 2012 ; ^eBurrel et al., J Virol, 2015 ; ^fBurrel et al., Mol Biol Evol, 2017 ; ^gDeback et al., J Clin Microbiol, 2009 ; Burrel et al., J Clin Microbiol, 2013 ; ^hBurrel et al., Mol Biol Evol, 2017

VZV

Méthode Diagnostique	Laboratoire coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié salpêtrière
Résistance génotypique aux antiviraux	Séquençage des ORF28 et ORF36 ^b Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD)	Séquençage des ORF28 et ORF36 ^b ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS) GridION (Oxford Nanopore Technologies) Séquençage des ORF55 et ORF6 pour la recherche de résistance à l'aménamévir et au pritélivir (nouveaux antiviraux inhibiteurs du complexe HP) ^d
Marqueurs épidémiologiques (polymorphisme génétique)	Différenciation souches vaccinales souches sauvages : Séquence ORF 64 RFLP-typage Identification de souches : Séquence génome entier sur souche (Ion Proton)	Caractérisation des souches de VZV : souche vaccinale/sauvage PCR en temps réel différentielle ciblée sur l'ORF62 Identification de 4 SNPs dans les ORF62 et ORF38 Génotypage des souches de VZV : identification des clades Identifications de SNPs dans les ORF1, ORF21, ORF22, ORF38, ORF50, ORF54 ^c

^aBurrel et al., J Virol Methods, 2012, ^bPerrier et al., J Virol Methods, 2016, ^cd'après Quinlivan et al., J Clin Microbiol, 2012, ^dPacreau et al., Antiviral Res, 2021

Génotypage des autres herpesvirus : HHV6, EBV

Laboratoire coordonnateur Limoges	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière (A Gautheret-Dejean)
HHV-6 ^a : Identification des génomes intégrés Recherche de résistance	HHV-6 : Typage des variants A et B par PCR-séquence Identification des génomes intégrés
Laboratoire coordonnateur	Laboratoire Support EBV (P Morand, R Germi)
EBV : séquence de génome complet par capture ^b (Illumina)	EBV : Typage des variants par PCR-séquence

^a Boutolleau et al. J Clin Virol. 2006

^b Bayda N, Tilloy V et al. 2021

Autres techniques

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Transfert des techniques de recherche vers le CNR

Les moyens mis en œuvre par l'équipe de recherche (Bacmides recombinants, modèles d'infection, évaluation de fitness ou de cinétique virale sont disponibles sous forme d'une plateforme, C-Lim, dédiée à l'évaluation de nouvelles molécules anti-CMV ou de procédés antiviraux physiques ou chimiques et mise en place en 2017. Ils sont donc disponibles pour les activités du laboratoire CNR et ont également été mis à profit pour identifier ou expertiser des antiviraux et des procédés chimiques (solutions hydroalcooliques) ou physiques (ultra-violets/Led, chauffage, matériaux de surface à propriétés antivirales) dirigés contre le SARS-CoV2 ou l'Herpes simplex.

Laboratoire CNR associé Necker :

Séquençage NGS :

Métagénomique clinique pour le diagnostic des pathogènes rares (en routine)

Amplification du génome CMV entier (en cours de développement, prévu fin 2024)

Laboratoire CNR associé Pitié-Salpêtrière :

Séquençage NGS :

Amplification du génome du VZV en entier (en cours de développement)

Séquençage des gènes viraux impliqués dans la résistance aux antiviraux (en cours de développement)

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

CMV et grossesse:

La prise en charge de l'infection congénitale à CMV est entrée dans une période charnière.

En effet, en 2020 les résultats d'une étude randomisée en double aveugle contre placebo a démontré l'efficacité d'un **traitement préventif par le valaciclovir pour diminuer de façon significative la transmission materno-foetale du CMV chez des femmes ayant eu une primo-infection au 1er trimestre de la grossesse.**

Les résultats de cette étude ont été confirmés par ceux d'une étude du CNR associé Necker qui retrouve la même **diminution de 70% du risque de transmission verticale en comparant un groupe de femmes traitées à un groupe historique de femmes non traitées.**

Cette avancée pourrait révolutionner la prise en charge de la primo-infection maternelle d'autant qu'il a été montré, notamment grâce aux études épidémiologiques du CNR associé Necker, **qu'en cas de primo-infection maternelle les risques de séquelles sont limités aux primo-infections survenues pendant le 1er trimestre.**

Ces connaissances diffusent dans la communauté médicale et incitent les obstétriciens et les sages-femmes à prescrire une sérologie CMV de façon systématique au 1er trimestre de la grossesse alors que les recommandations nationales émises par le HCSP en 2018, avant ces avancées scientifiques, sont de ne pas dépister cette infection.

Nous sommes donc dans une situation intermédiaire où une partie des praticiens conscients d'une potentielle perte de chance pour leurs patientes pratiquent une sérologie CMV en dehors des recommandations nationales induisant une inégalité flagrante d'accès aux soins et des hésitations dans la prise charge en raison du manque d'expérience et de l'absence de protocoles nationaux sur lesquels s'appuyer.

En l'absence de ces guidelines nationales notamment concernant le traitement antiviral préventif de la transmission materno-fœtale, le CNR avec son expérience unique reconnue nationalement et internationalement est un maillon essentiel pour le conseil aux praticiens.

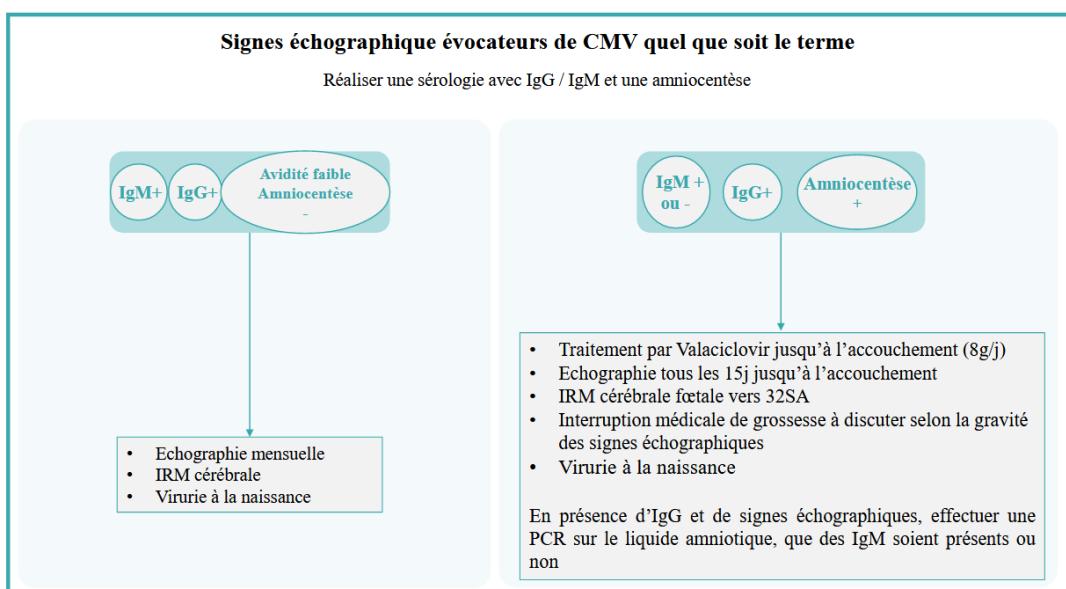
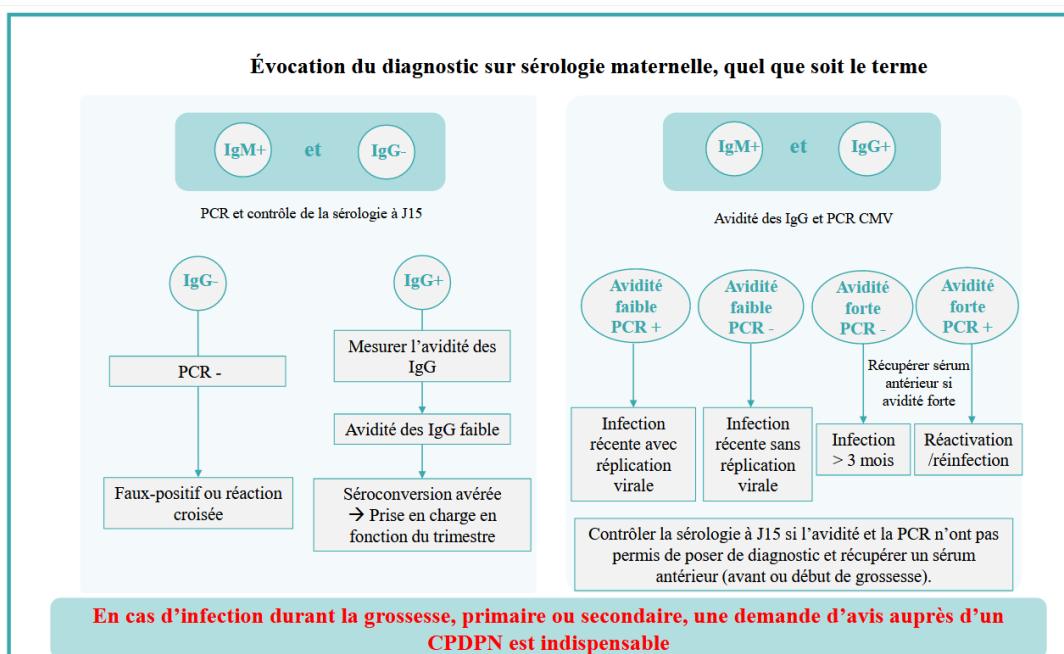
Dans ce sens, nous avons mis à disposition de nos collègues des protocoles de traitement et des logigrammes d'interprétation des sérologies et un protocole pour le diagnostic chez le nouveau-né par prélèvement de salive disponibles sur le site internet du CNR.

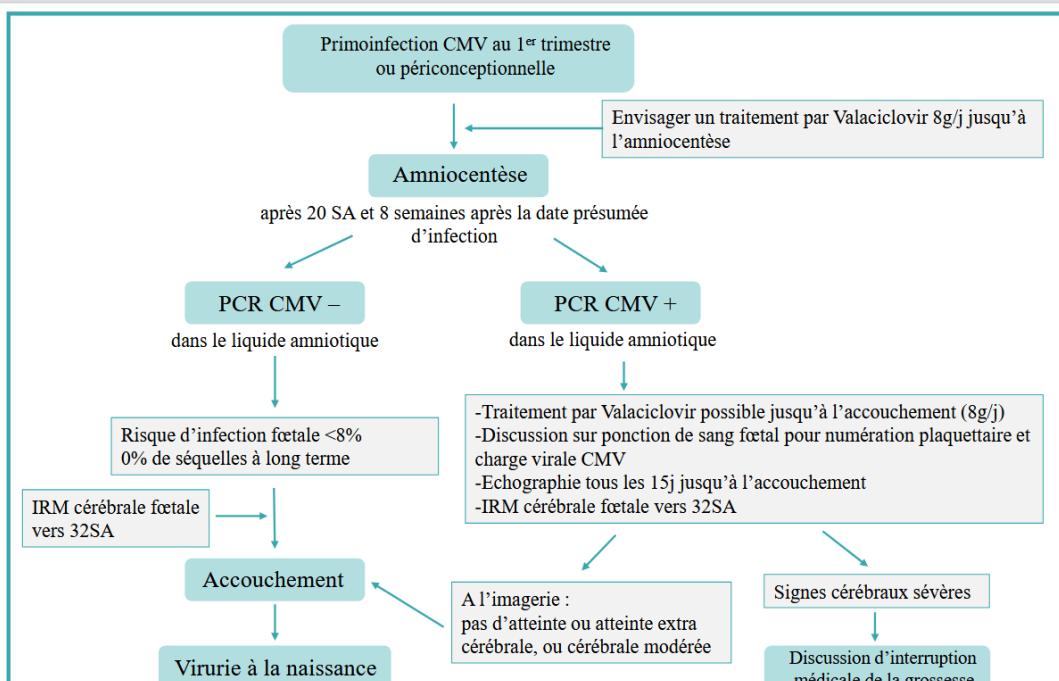
Ci-dessous :

Recommandations CMV / grossesse

Prélèvement salivaire nouveau-né

(disponible sur le site internet du CNR)





Séroconversion (primo-infection) au 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre (>15SA)

- Echographie mensuelle
- IRM cérébrale à 32 SA
- Virurie à la naissance

Séroconversion (primo-infection) suspectée, avec datation impossible ou infection secondaire

- Echographie mensuelle
- Virurie à la naissance
- IRM cérébrale si signe échographique

Pas d'interruption médicale de la grossesse en l'absence de signes lors des échographies ou de l'IRM

Prélèvement salivaire du nouveau-né en vue d'un PCR CMV



1. Faire le prélèvement à distance d'une tétée (1 heure après)
2. Ouvrir l'emballage stérile pour prendre l'écouvillon
3. Vérifier qu'il n'y pas de lait dans la bouche du nouveau-né et si besoin éliminer le lait avec une compresse stérile. Cette étape est importante car le lait maternel peut contenir du CMV et l'analyse serait alors faussée
4. Appliquer l'écouvillon dans la face interne de la joue du nouveau-né pendant environ 20 à 30 secondes jusqu'à ce qu'il soit imbibé de salive.
5. Insérer l'écouvillon à l'intérieur du tube et le casser pour fermer le tube
6. Mettre l'étiquette du nouveau-né sur le tube
7. Envoyer le prélèvement au CNR

Et nous avons mis en place depuis 2006 un recueil systématique et détaillé des cas d'infection congénitale à CMV dans une base de données nationale validée par la CNIL, accessible à tous les praticiens, sur demande, en cliquant sur : **recensement des cas d'infection congénitale à CMV**. Nous vous remercions de penser à déclarer tout nouveau cas.

Il nous a paru essentiel de diffuser une information basée sur les preuves à destination des professionnels de santé mais aussi des usagers ; pour cela nous coordonnons la réalisation d'un MOOC impliquant toutes les équipes françaises spécialisées dans la prise en charge de cette infection. Nous sommes par ailleurs à la disposition de nos collègues par téléphone et par email pour donner ces conseils et participons à des consultations spécialisées et des téléconsultations. Nous sommes à la disposition des instances nationales pour partager notre expertise personnelle et bibliographique sur le sujet et aider à des prises de décisions notamment sur la pertinence ou non d'un dépistage systématique du CMV pendant la grossesse.

CMV : résistances aux antiviraux

Génotype :

- Séquençage Sanger des gènes cibles UL97+UL54 +/- UL56-89-51-27 dans leur totalité.
- Si le laboratoire ne réalise pas toutes ces séquences il peut en adresser une partie au laboratoire CNR.
- Nécessité d'informations cliniques sur le traitement reçu (voir modalités et formulaires d'envoi au CNR sur le site internet du CNR)
- Applicable à tout prélèvement de charge virale suffisante (>1000UI/mL); associer sang et localisation si maladie à CMV.
- S'ils ne sont pas adressés au Laboratoire CNR, il est indispensable d'adresser les séquençages à des laboratoires de référence participant à un contrôle annuel de qualité (du CNR ou du QCMD). Ces laboratoires s'appuient sur l'expertise du CNR (appel téléphonique ou base de données du CNR) pour l'interprétation des mutations et pour le conseil aux cliniciens en raison de la difficulté d'interprétation liées à certaines mutations.
- Envoyer les nouvelles mutations au Laboratoire CNR pour expertise et phénotypage sur bacmides recombinants (accès à la base de données des mutations de résistance via le site internet du CNR).
- Déclarer les résistances aux antiviraux au Laboratoire CNR.

Apport du NGS :

- La sensibilité est élevée (2-5%) mais coûteuse et le risque d'émergence de mutants de faible fréquence reste controversé.
- Utilité de l'analyse rétrospective pour la cinétique de l'émergence précoce des mutants avec envoi au CNR des prélèvements.
- Place dans le diagnostic précoce au cas par cas élargissement des indications à évaluer (cf protocole OrPhaVic).
- Nécessité de contrôles, de normalisation et de validation de la reproductibilité des résultats.

Mesure de la charge virale CMV:

- Recommandations pour l'usage du standard international OMS et le calcul du facteur de conversion (*disponible sur le site internet du CNR*) :

Recommandations pour l'usage du standard international OMS et le calcul du facteur de conversion (laboratoire CNR Limoges)

1^o Validation de l'absence d'impact de la congélation après remise en suspension sur les résultats du WHO

Le standard est délivré sous forme lyophilisée, avec une valeur en copies/mL après remise en suspension en eau distillée stérile de $5 \cdot 10^{15}$ copies/mL.

La nécessité d'obtenir coefficient valable sur une gamme de valeurs de charges virales impose de tester plusieurs dilutions dans la matrice pour laquelle on veut déterminer le coefficient, de $5 \cdot 10^{15}$ à $5 \cdot 10^{13}$, toutes supérieures au seuil de sensibilité des techniques pour éviter les résultats inexploitables. Ces dilutions sont ensuite testées séparément six fois et la moyenne géométrique est calculée. Pour ce faire il est nécessaire de travailler sur plusieurs jours. Nous avons donc contrôlé la stabilité du standard en eau distillée après congélation-décongélation (ce qui n'avait pas été validé lors du calcul de la valeur absolue du standard).

Les résultats ci dessous autorisent une congélation et donc un travail sur trois jours consécutifs.

Dilutions	Who non congelé					WHO congelé			
	Essai 1	Essai 2	Essai 3			Essai 4	Essai 5	Essai 6	Essai 7
$5 \cdot 10^{15}$	1467790	1932750	2046890	Faibles dilutions laissées de côté	1699070	1702920	2292260	1710850	
$5 \cdot 10^{14}$	1837100	1814800	1845300		2152900	2085700	1882700	1380400	
$5 \cdot 10^{13}$	pas d' IC	1930000	2439000		2803000	1766000	2127000	2191000	
$5 \cdot 10^{12}$	60	267	120		125	349	153	59	
moy	1864203,75	8,27049338	log moy		1982800	Moy	CV	0,187782	
ET	303332,04				372334,892	ET			
CV	0,162714	GMT	1843403,97		log moy	8,29727891			
essai validé		logGMT	6,28562052		GMT	1951684,74			
					logGMT	6,29040987			
6,27 vs 6,29 : pas de différence significative (0,02 log)									
Reconstitution du WHO dans 1 mL d'eau distillée donnant une concentration de $5 \cdot 10^{15}$ cop/mL.									
Matrice de dilution : sang total.									
Extemporanément: reconstitution du WHO + dilution + extraction le jour même									
Dilutions en sang total conservées à 4°C pendant 24h avant extraction.									
Dilutions conservées à -80°C pendant 8 jours avant extraction.									
résultats exprimés en copies/mL.									

Le faible impact du traitement préanalytique permet à chacun de travailler selon ses modalités :

Et préanalytique	Absence ou peu d'impact du traitement préanalytique : chacun peut conserver sa phase préanalytique											
	WHO non congelé					WHO congelé -50°C						
	Extemporanément	Extemporanément	Extemporanément	24h à 4°C	24h à 4°C	24h à 4°C	1 semaine à 50°C	1 semaine à 50°C	1 semaine à 50°C	Extemporanément	Extemporanément	Extemporanément
Code Et préanalytique moyen	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
écart type log	6,05	6,30	6,28	5,90	8,00	8,33	8,22	8,19	8,13	8,12	8,13	8,18
écart type par écart moyen				8,21		8,01		8,18		8,13		
écart type												Ecart max 0,2 log
écart type log												
écart type moyen	1,13E+08	2,00E+08	1,82E+08	7,98E+05	9,92E+05	2,14E+08	1,87E+08	1,55E+08	1,39E+08	1,31E+08	1,34E+08	1,44E+08

En conséquence le protocole et le calcul suivant sont recommandés :

Dilution	1	2	3	1	2	3	4		
Valeur théorique attendue en copies/mL	5.10 ⁵	5.10 ⁴	5.10 ³	calcul de la valeur du WHO pour chaque dilution				moyennes géométriques des valeurs pour chaque essai (gommé l'effet de gamme)	moyenne géométrique des essais donne la valeur du WHO dans cette matrice avec cette technique
Résultat en copies essai 1				0	0	0		#NOMBRE!	#NOMBRE!
Résultat en copies essai 2				0	0	0		#NOMBRE!	
Résultat en copies essai 3				0	0	0		#NOMBRE!	Valeur théorique du WHO
Résultat en copies essai 4				0	0	0		#NOMBRE!	5000000,000
Résultat en copies essai 5				0	0	0		#NOMBRE!	
Résultat en copies essai 6				0	0	0		#NOMBRE!	

Proposition de calcul du coefficient d'après les recommandations du NISBC.	Valable pour un couple "Extraction-PCR"
Utiliser la moyenne géométrique des dilutions, puis celle des moyennes par essai de ce qui tient compte des variations liées à la concentration d'ADN, surtout importantes pour les PCRs maison.	
Les valeurs proches de 10E2 ont été éliminées car trop proches du seuil des différentes techniques	(Pour une technique très linéaire et avec un CV faible à 10E2 elles pourraient en théorie être réincorporées.)
Pour la réalisation des essais il est possible mais non recommandé de congeler le WHO après remise en suspension en eau distillée, et avant dilution, dès lors que le délai de congélation est court et que la gamme se limite à des valeurs de charge virale moyennes ou élevées.	
Avant de valider les résultats pour le calcul du coefficient il est nécessaire de vérifier que le coefficient de variation pour les valeurs de gamme utilisées est conforme au coefficient de variation attendu pour votre technique.	
Le calcul du sang est considéré comme valable pour la moelle et sera appliquée par défaut pour toute matrice riche en cellules (tissus) pour laquelle il n'est pas possible de faire des dilutions.	
Pour les liquides ammoniques, le plasma ou le LCR il est recommandé de refaire les manipulations car le coefficient sera probablement différent.	

Ce protocole est disponible en ligne sur le site du CNR CMV. Il a été diffusé à tous les membres du groupe PCR CMV. L'ensemble des résultats sera colligé par le CNR pour analyse. Le prochain Panel de contrôle de qualité diffusé en septembre 2012 par le QCMD en collaboration avec le laboratoire CNR sera donc rendu en UI/mL

3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)

3.1 Permanence du CNR¹

Laboratoire CNR coordonnateur Limoges :

Horaires : 8H30-18H du lundi au vendredi

Téléphone : 05 55 05 67 24

Emails : sophie.alain@chu-limoges.fr; sebastien.hantz@chu-limoges.fr; cnr-herpesvirus@chu-limoges.fr;

En cas d'urgence : Pr Sophie ALAIN : 06 74 84 73 82

Laboratoire CNR associé Necker :

8H30-18H du lundi au vendredi : téléphone : 01 44 49 49 62 (de 9H à 16H) ou 01 44 49 49 07.

Emails : marianne.leruez@aphp.fr; jacques.fourgeaud@aphp.fr; nicolas.veyrenche@aphp.fr

En cas d'urgence : Dr Marianne Leruez-Ville : 06 25 62 51 86

Laboratoire CNR associé de la Pitié-Salpêtrière :

Horaires du CNR associé de la Pitié-Salpêtrière : 9h00-17h00 du lundi au vendredi

Téléphone : 01 42 17 72 89 / 01 42 17 74 01

Courriel : cnr-herpesvirus.virologie-psl@aphp.fr / david.boutolleau@aphp.fr

En cas d'urgence : Dr David BOUTOLLEAU : 06 19 55 37 46

3.2 Autorisations MOT²

Non concerné

3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale

Les Pr Sophie Alain, Sébastien Hantz, et les Dr Marianne Leruez, Jacques Fourgeaud sont tous inscrits au Conseil National de l'Ordre des Médecins.

Le Dr David Boutolleau est inscrit au Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens.

L'ensemble des praticiens du CNR Herpesvirus sont titulaires du DES de Biologie Médicale.

3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo

Néant

3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France

Néant

3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR

Cf activités de recherche du CNR

3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR

ANNEXES

RECOMMANDATIONS FFADAN

 www.ffadan.org	Propositions pour la pratique du dépistage auditif néonatal	
	Dépistage ciblé du CMV congénital en maternité	Rédaction FFADAN GT CMV Proposition 20 février 2024 Validation CA FFADAN du XXXX
		5 pages

Ces propositions sont formulées par le groupe de travail transversal « CMV » (GT CMV), dans le cadre de la Fédération Française des Acteurs du Dépistage Auditif Néonatal (FFADAN).

Membres du GT CMV en annexe.

L'objectif est de discuter l'adoption de la recommandation du HCSP³ (avis du 18/05/2018), qui préconise le dépistage de l'atteinte congénitale liée au cytomégalovirus (cCMV) ciblé chez les nouveau-nés en alerte auditive uni ou bilatérale lors des dépistages en maternité.

Ces propositions ont pour but d'exposer la position de la FFADAN vis à vis du dépistage du cCMV ciblé sur les résultats du dépistage auditif néonatal et d'en constituer un guide pratique.

La condition préalable minimale à la mise en place de ce dépistage ciblé est d'élargir la nature de la surdité à dépister aux surdités unilatérales. Le GT considère que les conditions devraient être rapidement réunies pour adopter sur l'ensemble du territoire le dépistage ciblé du cCMV sur les tests auditifs néonataux. Proposer le dépistage de la surdité unilatérale et bilatérale sur l'ensemble du territoire national est une recommandation de la FFADAN⁴, et fait l'objet de la note de cadrage du travail de la HAS de septembre 2023⁵.

Documents associés :

- Comment établir un diagnostic rétrospectif d'infection congénitale à CMV ? (FFADAN)

Quel est l'objectif de ce dépistage ciblé du cCMV ?

L'objectif principal est de répondre "à temps" à la question étiologique si le nouveau-né est confirmé sourd (à la demande des ORL et des parents).

Les objectifs secondaires visent à optimiser la prise en charge des enfants avec cCMV.

- Permettre le bilan initial spécifique (imagerie, bilan visuel, bilan biologique)
- Mettre en place un suivi ORL spécifique (suivi prolongé auditif et vestibulaire)
- Permettre un suivi développemental (pédiatrique) spécifique (neuro sensoriel, apprentissages ...)
- Poser à temps (avant un mois de vie) la question du traitement antiviral selon le contexte et les résultats du bilan initial.

³ <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=703>

⁴ <https://www.ffadan.org/nos-recommandations>

⁵ https://www.has-sante.fr/jcms/p_3458472/fr/evaluation-du-programme-national-de-depistage-de-la-surdite-permanente-neonatale-note-de-cadrage

Le GT précise que ce dépistage conduit à une modification de la prise en charge de l'enfant atteint, même s'il n'y a pas de mise en place de traitement antiviral.

A quelle étape du dépistage de la surdité peut-on associer le dépistage du cCMV ?

Deux étapes peuvent être envisagées : à l'issue d'un retest non concluant en maternité (T2) ou à l'issue d'un test ambulatoire différé (T3).

L'étape diagnostique (ORL experts) intervient hors délai (voir plus bas). Une recommandation spécifique FFADAN répond à la question « Comment établir un diagnostic rétrospectif d'infection congénitale à CMV ? ».

Étape T3 (ou test ambulatoire différé) : le choix de l'étape T3 réduirait notablement le nombre d'enfants ciblés pour le dépistage du cCMV. Cependant, cette étape n'est pas à ce jour mise en place sur l'ensemble du territoire (ce point fait l'objet de la note de cadrage du travail de la HAS), et elle est souvent trop tardive (voir fenêtre de réalisation de la PCR ci-dessous). De plus, sa réalisation en ambulatoire n'est pas homogène sur le territoire (acteurs, lieu), et la réalisation pratique des prélèvements est difficile hors établissement et en consultation ORL, la traçabilité plus difficile.

La prise en charge par l'assurance maladie présente des limites, notamment pour l'exonération du ticket modérateur :

PCR CMV inscrite à la nomenclature des actes de biologie (NABM), et cotée B150 soit 40,50 euros (JO du 11/01/2019).

Conditions de la prise en charge à 100% par l'assurance maladie (exonération du ticket modérateur) :

- *dans tous les cas si réalisé avant 12 jours de vie (assurance maternité),*
- *ainsi que dans les 30 premiers jours de vie si réalisé en établissement de santé.*

Voir AMELI.FR

Étape T2 (test auditif contrôlé non concluant en maternité) : le choix de l'étape T2 permet un timing au plus proche de la naissance, en lien avec les recommandations (voir plus bas). A ce moment du parcours, le nouveau-né est présent en établissement de santé, auprès d'un personnel habitué aux prélèvements du nouveau-né, avec un circuit avec le laboratoire bien identifié, une facilité de reconvoquer sur place si nécessité d'un contrôle, et une traçabilité organisée.

Le choix de cette étape contribue à inciter à optimiser les tests auditifs en maternité.

Optimiser la réalisation des tests en maternité a pour objectif d'obtenir un taux de nouveau-nés avec T2 non concluants contenu. Dans cette optique, le GT s'appuie sur la recommandation de la FFADAN d'utiliser la modalité PEAA si possible dès le premier test de l'audition (T1) et dans tous les cas pour le retest² (contrôle en maternité ou T2).

Le GT se positionne pour un dépistage à l'étape T2, c'est à dire après la réalisation d'un retest en maternité.

Si la recherche du CMV n'a pas été effectuée en maternité, il est possible de considérer un rattrapage à l'étape T3 (au cas où le test auditif reste non concluant). Il est alors souhaitable que cette étape soit organisée avant J15.

Par quel examen dépister le cCMV ?

La recherche du cCMV repose sur une PCR CMV chez le nouveau-né. Les sérologies chez le nouveau-né n'ont aucun intérêt pour le diagnostic des cCMV et ne doivent pas être demandées.

L'examen PCR peut être réalisé à partir d'un échantillon de salive (écouvillon bucal) ou d'urine.

La PCR sur le sang n'est pas assez fiable dans ce contexte en raison de faux négatifs chez des nouveau-nés atteints, mais non virémiques.

Quel type de prélèvement choisir ?

La PCR salivaire est un examen non invasif et très simple. Il existe un faible risque de faux positifs, quand le prélèvement est contaminé par le lait maternel si on n'est pas à distance de la tétée, ou par le passage dans les voies génitales et par l'environnement.

Réalisation du prélèvement salivaire : à distance d'une tétée (1 heure après), vérifier qu'il n'y a pas de lait dans la bouche (essuyer avec une compresse), appliquer l'écouillon 20-30 secondes face interne de la joue pour qu'il s'imbibe de salive.

La PCR urinaire est considérée comme l'examen de référence. S'il n'est pas invasif, le recueil urinaire n'est pas toujours aisément chez le nouveau-né (compresse dans la couche), et recueillir l'urine peut retarder la sortie de maternité de quelques heures.

Pour des raisons de faisabilité, le GT se positionne pour recommander, dans le cadre du dépistage ciblé, une PCR sur prélèvement salivaire.

Contrôle des résultats de PCR salivaire positifs

En cas de cCMV, les charges virales sont généralement très élevées, > 1000 copies/ml.

Le plus souvent, les charges virales < 1000 copies/ml sont des faux positifs.

Il est toutefois difficile de proposer un seuil en raison de techniques différentes entre les laboratoires.

Le GT recommande un contrôle systématique de toutes les PCR salivaient positives par une PCR urinaire.

NB : Une PCR urinaire positive affirme le diagnostic, sans contrôle nécessaire.

Intérêt des PCR quantitatives

Les PCR quantitatives sont possibles sur les prélèvements urinaires et salivaires.

Des PCR avec une charge virale confirmée basse pourraient correspondre à des cCMV tardifs (de fin de grossesse), donc avec une dynamique d'évolution péjorative moindre.

Le GT se prononce pour la réalisation de PCR quantitatives.

Quelle est la fenêtre de réalisation des PCR ?

La primo-infection par le CMV est très fréquente chez le jeune nourrisson. Hormis en cas de grande prématurité ou de déficit immunitaire, cette primo-infection post natale est toujours bénigne, sans conséquences neurosensorielles.

Une infection post-natale ne peut être différenciée d'une infection congénitale si le prélèvement pour réaliser la PCR est effectué trop tard.

Il est donc impératif d'attester le caractère anténatal de l'infection par une PCR post natale suffisamment précoce.

Le GT se prononce pour un seuil à 15 jours de vie. Le GT préconise la réalisation de tout prélèvement salivaire ou urinaire (première PCR ou PCR de contrôle) avant 15 jours de vie.

Le second argument pour un prélèvement précoce est celui de l'éventuelle indication d'un traitement antiviral. Le cas échéant, celle-ci doit être discutée pour débuter le traitement idéalement au cours du premier mois de vie.

En cas de prélèvement plus tardif (après 15 jours de vie)

Une PCR salivaire ou urinaire négative exclut le diagnostic de cCMV.

Une PCR positive (urines/salive) peut correspondre à une infection congénitale ou post natale.

La PCR rétrospective sur le buvard Guthrie peut aider à la démarche diagnostique. Une PCR Guthrie positive confirme le cCMV, un résultat négatif ne peut l'exclure. Voir document : « Comment établir un diagnostic rétrospectif d'infection congénitale à CMV ? ».

Quelle information parentale, quel consentement, quelle restitution des résultats ?

Information des parents

Le GT se positionne pour inclure une information sur les plaquettes du dépistage auditif utilisées en routine, en citant l'éventuelle recherche du CMV en cas de test auditif non concluant en maternité.

NB : ces documents sont actuellement régionaux. La FFADAN se positionne pour la co-construction d'une plaquette nationale dédiée au dépistage auditif dans les suites des futures recommandations de la HAS (voir note de cadrage de la HAS de septembre 2023).

L'information est sous la responsabilité du pédiatre de maternité comme pour tout examen biologique réalisé chez le nouveau-né.

Consentement

Le GT recommande que le consentement parental soit tracé dans le dossier médical. Il se prononce pour un consentement oral simple, mais explicite.

NB : en cas de recours au buvard Guthrie pour une PCR sur sang séché, un consentement écrit est nécessaire, voir document : « Comment établir un diagnostic rétrospectif d'infection congénitale à CMV ? ».

Transmission des résultats

Actuellement, et pour le dépistage néonatal biologique, les parents ne sont informés que des résultats positifs (c'est à dire en cas d'anomalie).

Pour la recherche de CMV, le GT émet les propositions suivantes :

- Les résultats positifs doivent être transmis sans délai aux parents, directement par le pédiatre de maternité, qui doit proposer un rendez-vous spécifique (voir ci-dessous).
- Les résultats positifs et négatifs sont transmis au pédiatre et/ou au médecin traitant de l'enfant.
- En cas de prélèvement négatif, un courrier type pourrait être mis en place par les maternités, adressé aux parents à réception du résultat, et conservé par les parents dans le carnet de santé, afin de pouvoir compléter l'information et l'inscrire sur le carnet de santé lors d'une consultation médicale.
- Les résultats positifs et négatifs sont archivés dans le dossier patient.
- Tous les résultats doivent être accessibles aux parents à leur simple demande et sans délai.

La transmission systématique de tous les résultats négatifs et positifs aux parents devra être envisagée si cette évolution est retenue pour les dépistages biologiques.

Traçabilité de la recherche de cCMV

A l'échelle du patient

Le GT recommande une traçabilité à la fois sur le dossier patient, et sur le carnet de santé du nouveau-né.

Il est proposé d'inscrire sur la page des dépistages « PCR CMV prélevée ».

Il est souhaité que cette information soit prise en compte lors de l'édition d'une prochaine version du carnet de santé (case à cocher par exemple).

A l'échelle régionale ou nationale

Le GT ne se positionne pas. La traçabilité par les opérateurs régionaux du dépistage est une contrainte lourde et nécessiterait des moyens alloués.

Toutefois, il y a un intérêt certain à disposer d'indicateurs permettant d'évaluer la mise en œuvre de ce dépistage ciblé.

Base de données nationale

Pour les enfants diagnostiqués atteints de cCMV à l'issue du dépistage, il est possible et recommandé de renseigner le registre national de enfants porteurs d'infections congénitales à CMV du Centre national de référence des Herpes virus. Il s'agit d'une base de données nationale validée par la CNIL, accessible sur demande à tous les praticiens⁶.

⁶ <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/surveillances/recensement-maternofoetal/infection-congenitale-a-cmv/>

Conduite à tenir chez le nouveau-né en cas de cCMV confirmé

Proposer des recommandations sur la conduite à tenir en cas de cCMV confirmé chez un nouveau-né n'appartient pas au champ de la FFADAN.

Néanmoins, le GT souhaite que des lignes directrices nationales soient proposées, avec le double objectif d'harmoniser les pratiques d'une part, et (essentiellement) de pouvoir fournir aux parents une information consensuelle minimale sur le suivi adapté.

L'information doit également porter sur les précautions à prendre pour limiter la diffusion du CMV dans l'entourage de l'enfant atteint, et notamment en direction de femmes enceintes.

Dans l'attente d'un consensus national, le GT propose de s'appuyer sur les recommandations européennes⁷, en cours de mise à jour, et les outils du Groupe de recherche sur les infections pendant la grossesse (GRIG)⁸.

Le GT recommande de référer à un pédiatre spécialiste/infectiologue tout nouveau-né avec cCMV confirmé, idéalement avec les résultats du bilan initial, et avant la fin du premier mois de vie.

Le bilan initial concerne tout nouveau-né avec cCMV confirmé, c'est à dire avec une PCR salivaire contrôlée par une PCR urinaire.

1 - Le bilan initial pédiatrique classique comprend :

- Examen clinique : biométrie (poids, taille, PC : microcéphalie ?), hépatosplénomégalie ? pétéchies ? examen neurologique.
- Biologie :
 - NFS, plaquettes
 - Fonction hépatique (bilirubine libre et conjuguée, enzymes hépatiques)
 - A noter :
 - La sérologie CMV IgG ou IgM chez l'enfant n'a aucun intérêt diagnostique ni pronostique pour le cCMV
 - La PCR CMV sang n'a d'intérêt que dans les rares cas où se pose la question d'une indication de traitement anti viral
 - Fonction rénale : uniquement en cas d'indication de traitement anti viral
- Examen ophtalmologique systématique
 - Dès que possible, dont fond d'œil (FO) avec recherche notamment de choriorétinite.
 - NB : des anomalies ophtalmologiques sont retrouvées chez 1 à 2% des nouveau-nés asymptomatiques.
- Imagerie :
 - Échographie transfontanellaire (TF) systématique : recherche dilatation ventriculaire, calcifications ...
 - En cas d'anomalie de l'écho TF ou microcéphalie ou signes cliniques neurologiques ou d'anomalie sur les imageries anténatales : concertation avec le radiologue pour compléter l'imagerie avec IRM et/ou IRM d'emblée

2 – Le bilan ORL :

Tous les enfants avec une PCR CMV positive doivent bénéficier d'un bilan en centre ORL expert, tel que défini pour l'étape diagnostique du dépistage. Cela même si un test différé (T3) a été réalisé et est concluant.

La première consultation comprend au minimum un PEA seuil et des OEA.

Dans la perspective éventuelle d'une indication du traitement antiviral, le GT recommande que ce bilan ORL puisse avoir lieu rapidement après la naissance, afin de pouvoir établir une synthèse pluri professionnelle pour l'enfant cCMV avant la fin du premier mois de vie.

⁷ Luck SE, Wieringa JW, Blázquez-Gamero D, et al. Congenital Cytomegalovirus: A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(12):1205-1213. doi:10.1097/INF.0000000000001763

⁸ <https://www.infections-grossesse.com/cytomegalovirus-cmv>

3 - La datation de l'infection congénitale :

La datation de l'infection maternelle au cours de la grossesse a pour objectif principal d'évaluer le pronostic :

- La période de l'infection est déterminante pour le pronostic de l'enfant. Les infections survenues avant 20 SA sont celles pour lesquelles le risque d'atteinte foetale avec séquelles est le plus important.
- Chez les nouveau-nés avec cCMV de survenue tardive (après 20 SA), le bilan étiologique, en cas de surdité confirmée, devra être étendu hors CMV.

Comment dater l'infection à CMV anténatale : par l'analyse des sérologies maternelles.

- En cas de cCMV confirmé et en concertation avec les virologues, prélever chez la mère une sérologie CMV avec analyse des sérum antérieurs disponibles (IgG, IgM et avidité des IgG). Pour ce faire : adresser une ordonnance au laboratoire pour reprise des sérum de grossesse (notamment du premier trimestre), et/ou faire rapatrier les prélèvements⁹.
- Se référer aux recommandations du Centre national de référence (CNR) des Herpes virus¹⁰. Le CNR peut être consulté pour des avis spécialisés.

4 - Comment faire le point à l'issue du bilan initial

A - Définir et classer la symptomatologie, ce qui aidera à repérer s'il existe une indication au traitement néonatal.

Des définitions ont été proposées par le *International Congenital Cytomegalovirus Recommendations Group*¹¹ et le *European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management*⁶.

- **Formes « moyennes à sévères »** avec plus de 2 atteintes attribuables à une infection congénitale par le CMV, ou atteinte sévère avec défaillance mettant en jeu le pronostic vital :
 - Thrombopénie, pétéchies, hépato ou splénomégalie, RCIU, hépatite (augmentation des transaminases ou bilirubine)
 - Atteintes du système nerveux central : microcéphalie ; anomalies de l'imagerie compatibles avec atteinte cCMV (ventriculomégalie, calcifications intra cérébrales, hyper échogénicité périventriculaire, malformations corticales ou cérébelleuses) ; si ponction lombaire réalisée dans le cadre d'une symptomatologie neurologique : anomalies du LCR ou détection du CMV dans le LCR (*NB : PL non recommandée en routine*) ; choriorétinite ; surdité neuro sensorielle associée à un autre signe d'atteinte cérébrale.
- **Formes légères**
 - Une ou deux manifestations isolées, peu importantes et transitoires. Par exemple, hépatomégalie, élévation transitoire des transaminases, thrombopénie.
 - NB : Ces signes existent dans les formes plus graves, mais sont ici isolés et transitoires.
- **Formes asymptomatiques avec surdité neuro sensorielle isolée**
 - Perte auditive confirmée > 20 dB (uni ou bilatérale)
- **Formes totalement asymptomatiques**
 - Aucune anomalie apparente et audition normale

B- dater l'infection congénitale

- C'est un élément important à prendre en compte pour établir un pronostic et organiser le suivi.
- Le caractère précoce ou tardif de l'infection foetale se réfère au seuil de 20 SA.
- Les infections tardives ne sont pas pourvoyeuses de séquelles neuro sensorielles. Leur suivi peut donc être allégé. A l'inverse, le suivi doit être prolongé pour les enfants infectés avant 20 SA.

5 - Les indications de traitement antiviral (Valganciclovir) :

⁹ Lettre de la société française de microbiologie : <https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2024/01/Lettre-du-GT-PEPs-pour-la-conservation-des-serums-de-grossesse.pdf>

¹⁰ <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/recommandations/recommandations-du-cnr/>

¹¹ Rawlinson WD, Boppana SB, Fowler KB, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(6):e177-e188. doi:10.1016/S1473-3099(17)30143-3

Le GT rappelle que les indications restent aujourd’hui discutées. Il n’y a pas de consensus car le traitement antiviral n’a pas fait l’objet d’évaluation prospective notamment sur sa tolérance à moyen/long terme. Le traitement peut réduire le risque de surdité sévère à court terme et le retentissement neurologique.

Cette efficacité a été rapportée lorsque le traitement est débuté avant un mois. Entre 1 et 3 mois de vie, l’indication de traitement peut être discutée au cas par cas.

Une attitude pratique nuancée est ainsi nécessaire, tenant compte de la symptomatologie.

Pour chaque enfant, une discussion de la balance bénéfice risque par l’infectiologue pédiatre et les intervenants, dont l’ORL, avec la famille est indispensable.

- Selon le *International Congenital Cytomegalovirus Recommendations Group*⁹, le traitement antiviral ne doit pas être administré à un nouveau-né avec une forme asymptomatique de cCMV. Il ne doit pas être utilisé en routine chez les nouveau-nés asymptomatiques avec surdité isolée ou nouveau-nés avec formes légères.
- Selon le *European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management*⁶, il n’y a pas de consensus, mais la majorité des experts incluraient la surdité en tant que critère d’inclusion de traitement, sachant que le principal bénéfice du traitement réside dans la préservation de l’audition plutôt que dans l’amélioration de l’audition une fois les dommages constatés.
- La pertinence de traitement antiviral chez un nouveau-né avec surdité isolée dépend aussi du degré d’atteinte sensorielle. Le traitement a pour effet de ralentir/modérer l’évolution ou d’éviter qu’elle ne se bilatéralise. Les attentes/bénéfices sur le plan ORL sont donc modérés en cas de surdité néonatale déjà bilatérale et sévère/profonde. La question du traitement se discutera essentiellement en cas de perte auditive modérée (30 à 80 dB), ou unilatérale.

La FFADAN considère que l’avis d’un pédiatre référent ou infectiologue pédiatre est impératif pour établir l’indication et les modalités du traitement anti viral, dans le cadre d’une concertation pluri disciplinaire.

La question des enfants dont le dépistage auditif néonatal est retardé

Voir également le document « Comment établir un diagnostic rétrospectif d’infection congénitale à CMV ? ».

Chez certains enfants, notamment hospitalisés en néonatalogie ou spécialités néonatales, la réalisation des tests auditifs peut être retardée de plusieurs semaines du fait de leur prématurité, de leur petit poids de naissance ou de leurs conditions de soins (ventilation avec bruit et interface nasale...).

On retrouve chez les enfants hospitalisés en néonatalogie des taux de surdité plus élevés que pour les enfants testés en maternité, et on peut s’attendre à une incidence plus élevée du cCMV chez ces enfants avec symptomatologie néonatale.

Comme pour les autres nouveau-nés, il est important de dépister les infections congénitales à CMV chez ces enfants, de façon à proposer un suivi adapté sur le plan ORL (suivi vestibulaire et auditif prolongé) et développemental, le cCMV constituant un facteur supplémentaire de vulnérabilité.

Le problème est alors à la fois de ne pas passer à côté d’une infection congénitale et de ne pas s’exposer à un faux positif (lié à une infection post natale) si le prélèvement pour la recherche du CMV est effectué à distance de la naissance. Les pratiques actuellement recommandées d’alimentation précoce des prématurés avec du lait maternel cru, pourraient augmenter ce risque de faux positif en raison d’une contamination/infection post natale au CMV (sans risque évolutif neuro sensoriel).

La littérature ne rapporte pas de procédure spécifique aux enfants hospitalisés, pour le dépistage ciblé du cCMV.

Les pratiques sont actuellement diverses, avec dans certains centres la réalisation d’une PCR CMV systématique à l’admission, sans lien avec les tests de dépistage auditif.

Cette option soulève de nombreuses questions de la part d’autres pédiatres néonatalogistes, puisqu’il s’agit alors d’un dépistage CMV non ciblé et *a priori* chez des nouveau-nés recevant des soins lourds, et au-delà de la recommandation du HCSP.

La procédure de prélèvement urinaire systématique et biothèque en vue de PCR ultérieure en cas de dépistage positif de surdité pourrait être une option pour ces enfants. Elle reste néanmoins plus complexe et à évaluer en fonction de l'organisation locale.

Le GT suggère que les sociétés savantes (SFN, SFP) se saisissent de cette question, ou qu'un groupe de travail national soit constitué, voire solliciter la HAS dans l'objectif d'élaborer un Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS).

Suivi des enfants avec cCMV

Suivi ORL

Le GT a constaté des pratiques différentes dans les centres français, en termes de calendrier de suivi, de durée du suivi, d'outils et de techniques pour les bilans auditifs et vestibulaires.

Le GT suggère que les sociétés savantes (SFORL, AFOP, SFA) se saisissent de cette question, et/ou qu'un groupe de travail national soit constitué, afin de fournir un guide pour la pratique (ou des recommandations) permettant d'harmoniser le suivi de ces enfants.

Dans l'attente des recommandations des sociétés savantes, le GT précise que :

- L'atteinte ORL dans le cadre du cCMV est audio vestibulaire. Elle se caractérise par son caractère évolutif sur le moyen et long terme, souvent asymétrique et dissociée. Elle n'atteint pas le nerf (surdité cochléaire sans neuropathie auditive). De ce fait, les OEA peuvent être utilisées, en surveillance de l'audition oreilles séparées, couplées à un examen champ libre.
- Les points clé du suivi sont les suivants :
 - o Envisager des parcours pondérés selon la date de l'infection au cours de la grossesse (avant ou après 20 SA).
 - o Suivi pluri annuel au moins les deux premières années.
 - o Le suivi ORL doit être prolongé plusieurs années.
 - o Le bilan vestibulaire devrait être systématiquement associé et au minimum effectué sur point d'appel (difficultés psychomotrices par exemple).
 - o Si un déficit auditif ou vestibulaire est mis en évidence, la surveillance et la prise en charge adaptées seront prolongées tout au long de l'enfance.
 - o Devant une surdité confirmée en période néonatale, la présence d'une PCR positive à CMV ne dispense pas d'un bilan étiologique plus large.

Suivi hors ORL

De même, le GT se prononce pour un guide pour la pratique ou un consensus national rédigé par les sociétés savantes. Les points suivants sont habituellement proposés :

- **Suivi ophtalmologique :**
 - o Si le fond d'œil (FO) est normal à la naissance : arrêt du suivi systématique. NB : le contrôle du FO à 1 mois est réservé aux enfants pour lesquels le FO précoce n'est pas suffisamment informatif (ex : hémorragie vitréenne secondaire à l'accouchement).
 - o Si anomalies à la naissance : suivi ophtalmologique selon avis du spécialiste.
- **Suivi développemental :**
 - o Le cCMV est un facteur de haut risque de troubles du neuro développement (TND), même si une majorité d'enfants ne présenteront aucun problème dans leur suivi.
 - o Il est souhaitable d'organiser un suivi pédiatrique en s'appuyant sur les examens aux âges clé proposés par les réseaux de suivi des enfants vulnérables, en lien avec le pédiatre et le médecin traitant, jusqu'à 7ans.
 - o Il peut être fait recours aux Plateformes de Coordination et d'Orientation (PCO-TND). Les signes d'appel détaillés et les grilles de repérage selon l'âge sont disponibles en ligne¹².

¹² https://handicap.gouv.fr/IMG/pdf/formulaire_reperage_tnd_2020.janv.pdf

Information générale des parents et des professionnels à propos du CMV

Le GT souligne la méconnaissance des professionnels, des mères d'enfants atteints et des parents en général sur la question de l'atteinte congénitale par le virus CMV, et la mauvaise application des précautions de prévention.

Le GT se positionne pour une information claire des parents et des professionnels, avec des supports nationaux concertés, corédigés avec la contribution d'associations d'usagers (usagers de périnatalité au sens large et associations de parents d'enfants atteints), de sociétés savantes (SFN, SFP, SFMP, CNSF, CNGOF...), de la Fédération française des réseaux de périnatalité.

Dans un premier temps, le GT recommande la diffusion large des supports édités par le GRIG, et propose d'y apporter sa contribution dans son champ de compétence.

Annexe : composition du groupe de travail CMV de la FFADAN et du groupe relecteurs

Groupe de travail

Pr ALAIN Sophie°	Virologue	Limoges
Dr BALADI Blandine*	ORL	Toulouse
Pr BIRAN Valérie°	Pédiatre	Paris Robert Debré
Pr BUTIN Marine°+	Pédiatre	Lyon HFME
Dr GOASGUEN-PARODI Marine*	ORL	Paris Necker
Dr LERUEZ-VILLE Marianne °	Virologue	Paris Necker
Dr MAGNY Jean-François°	Pédiatre	Paris Necker
Dr MAILLOTTE Anne-Marie*	Pédiatre	Nice
Pr MONDAIN Michel*	ORL	Montpellier
Dr OHL Christine*	ORL	Besançon
Dr RAMFUL Duksha*	Pédiatre	La Réunion
Pr TEISSIER Natacha°	ORL	Paris Robert Debré
Pr VAULOUF FELLOUS Christelle°	Virologue	Paris Paul Brousse

Coordination et secrétariat du groupe de travail :

Dr DURAND Catherine * Pédiatre Chambéry

Groupe de relecture

Pr ROMAN Stéphane*	ORL	Marseille
Dr GUELLEC Isabelle+	Pédiatre	Nice
Dr NUYTTEN Alexandra+	Pédiatre	Lille
Dr ZORES Claire+	Pédiatre	Strasbourg

* Membres de la FFADAN

◦ Membres invités permanents du groupe de travail

⁺ Membres du comité scientifique de la Société Française de Néonatalogie

 www.ffadan.org	Propositions pour la pratique du dépistage auditif néonatal	
	<p>Suites de dépistage Comment établir un diagnostic rétrospectif d'infection congénitale à CMV ?</p>	Groupe de travail CMV de la FFADAN Validation CA – Com Scient FFADAN Date : XX 2024 2 pages

Ces propositions sont formulées par le groupe de travail transversal « CMV » (GT CMV), dans le cadre de la Fédération Française des Acteurs du Dépistage Auditif Néonatal (FFADAN).

NB : Membres du GT CMV en annexe.

1 - Contexte : absence de dépistage ciblé systématique en post natal précoce

En dépit de la recommandation du HCSP de 2018, le dépistage ciblé du CMV congénital chez les nouveau-nés en alerte auditive à la naissance n'est aujourd'hui pas généralisé en France.

En cas de confirmation de surdité à l'étape diagnostique post dépistage auditif, la question étiologique se pose et nécessite de pouvoir affirmer ou infirmer une atteinte congénitale liée au CMV (cCMV).

Il est rappelé que dans le cas des surdités liées au cCMV, les OEA sont absentes. Des OEA présentes éliminent cette étiologie.

Les propositions suivantes concernent les enfants âgés de plus de 2 à 3 semaines et n'ayant pas bénéficié de PCR CMV dans les 2-3 premières semaines de vie.

Objectif : harmoniser les pratiques au sein des centres experts ORL recevant les nourrissons en post dépistage (étape diagnostique).

Cas particulier :

Chez certains enfants, notamment hospitalisés en néonatalogie ou spécialités néonatales, la réalisation des tests auditifs peut être retardée de plusieurs semaines du fait de leur prématurité, de leur petit poids de naissance ou de leurs conditions de soins (ventilation avec bruit et interface nasale...).

On retrouve chez les enfants hospitalisés en néonatalogie des taux de surdité plus élevés que pour les enfants testés en maternité, et on peut s'attendre à une incidence plus élevée du cCMV chez ces enfants avec symptomatologie néonatale.

En l'absence de consensus sur un dépistage généralisé du cCMV dans les premiers jours de vie chez ces enfants, les recommandations ci-dessous leur sont applicables.

2 - Démarche diagnostique pour un nourrisson de moins de 6 mois

Effectuer une PCR CMV : sur prélèvement salivaire ou urinaire.

En cas de cCMV, l'excrétion salivaire et urinaire sont prolongées, au moins durant 6 mois.

- Si le résultat est négatif : le diagnostic de cCMV est exclu.
- Si le résultat est positif : il convient d'effectuer une PCR CMV sur le buvard Guthrie, pour éliminer une contamination post natale (voir paragraphe 5).
 - Une PCR Guthrie positive confirme le diagnostic de cCMV
 - Une PCR Guthrie négative rend peu probable ce diagnostic, sans l'éliminer.

3 - Démarche diagnostique pour un nourrisson de plus de 6 mois

- Si le carton Guthrie est disponible : Effectuer une PCR sur le buvard Guthrie (voir paragraphe 5).
 - Une PCR Guthrie positive confirme le diagnostic de cCMV.
 - Une PCR Guthrie négative rend peu probable ce diagnostic sans l'exclure. 10% des nouveau-nés infectés ont une PCR sanguine négative et 10 à 15% ont des charges virales trop faibles pour être détectées.
- Si le carton Guthrie n'est pas disponible ou si la PCR Guthrie est négative : Prélever une sérologie CMV chez le nourrisson.
 - IgG CMV négatifs : le cCMV est exclu.
 - IgG CMV positifs : l'infection CMV peut être congénitale ou post natale. Le diagnostic reposera sur un faisceau d'arguments :
 - o Séroconversion maternelle ?
 - o Anomalies cliniques (RCIU) ? ou para cliniques (IRM)...
- NB : La PCR CMV sang ou urine n'a plus d'intérêt en raison de la forte probabilité d'infection post natale.

4 - Quelles sont les difficultés avec la PCR sur buvard Guthrie ?

- Difficultés d'accès au buvard
- Technique longue (manuelle) et fastidieuse
- Sensibilité analytique moins bonne que sur sang frais :
 - Moins de sang analysé : 1 spot = 50 μ l versus 1 ml sur sang frais
 - ADN difficile à extraire du support
 - Seuil de détection : 1 500 à 10 000 copies/ml selon les techniques sur sang séché, versus 200 copies/ml environ sur sang frais, urines ou salive.

5 - Comment recourir au buvard en pratique

- Disponibilité
 - Les buvards Guthrie sont conservés par les Centres régionaux de dépistage néonatal (CRDN) au minimum 12 mois.
 - Selon les régions, la conservation est prolongée plusieurs années.
- Autorisation
 - Tout retour au buvard nécessite une autorisation parentale signée.
 - Mention devant figurer sur l'autorisation parentale : « (...) autorisons le laboratoire de dépistage néonatal à utiliser le prélèvement sanguin sur buvard, effectué en période néonatale, pour d'autres analyses que celles du dépistage néonatal (...) ». Ajouter l'ordonnance pour PCR CMV.
 - Le groupe de travail se prononce pour la mise à disposition par le CNCDN d'un formulaire type.

- Quels laboratoires effectuent cet examen ?
 - Les laboratoires spécialisés des centres de référence, des centres experts, et de certains CHU : la liste de ces laboratoires devrait être mise à disposition sur le site du Centre national de référence (CNR) des Herpes virus¹³.
 - Se renseigner auprès du CHU de proximité ou du centre de référence.

Annexe : composition du groupe de travail CMV de la FFADAN et du groupe de relecture

Groupe de travail

Pr ALAIN Sophie°	Virologue	Limoges
Dr BALADI Blandine*	ORL	Toulouse
Pr BIRAN Valérie°	Pédiatre	Paris Robert Debré
Pr BUTIN Marine°+	Pédiatre	Lyon HFME
Dr GOASGUEN-PARODI Marine*	ORL	Paris Necker
Dr LERUEZ-VILLE Marianne °	Virologue	Paris Necker
Dr MAGNY Jean-François°	Pédiatre	Paris Necker
Dr MAILLOTTE Anne-Marie*	Pédiatre	Nice
Pr MONDAIN Michel*	ORL	Montpellier
Dr OHL Christine*	ORL	Besançon
Dr RAMFUL Duksha*	Pédiatre	La Réunion
Pr TEISSIER Natacha°	ORL	Paris Robert Debré
Pr VAULOUF FELLOUS Christelle°	Virologue	Paris Paul Brousse

Coordination et secrétariat du groupe de travail :

Dr DURAND Catherine * Pédiatre Chambéry

Groupe de relecture

Pr ROMAN Stéphane*	ORL	Marseille
Dr GUELLEC Isabelle+	Pédiatre	Nice
Dr NUYTTEEN Alexandra+	Pédiatre	Lille
Dr ZORES Claire+	Pédiatre	Strasbourg

* Membres de la FFADAN

◦ Membres invités permanents du groupe de travail

⁺ Membres du comité scientifique de la Société Française de Néonatalogie

¹³ <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/recommandations/recommandations-du-cnr/>

Annexe :

**Réseau de partenaires pour la déclaration en ligne des cas d'infection
congénitale à CMV (plateforme de déclaration en ligne Voozanoo) au
31/12/2023**

Date création accès VOOZANOO	Commune	Spécialité	Nom	Prénom
12/06/2023	PARIS 10E ARRONDISSEMENT	Biologie	Mahjoub	Nadia
11/05/2023	MEAUX	Pédiatrie	KHLIF MASMOUDI	Fedia
03/05/2023	BESANCON	Obstétrique	CATTIN	Julie
03/05/2023	BORDEAUX	Obstétrique	PRIER	Perrine
03/05/2023	TALENCE	Biologie	MOUTTON	Sébastien
26/04/2023	LYON	Biologie	VERMONT	Mathilde
25/04/2023	STRASBOURG	Pédiatrie	LABBASSI	Imad
14/04/2023	TOURS	Obstétrique	ARLICOT	Carine
12/04/2023	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	DELABAERE	Amélie
12/04/2023	BAYONNE	Biologie	LEYSSENE	David
02/03/2023	GRENOBLE	Biologie	ARATA-BARDET	Julie
02/03/2023	NIMES	Biologie	STEPHAN	Robin
27/02/2023	PARIS 14E ARRONDISSEMENT	Obstétrique	MARQUET	Manon
27/02/2023	CAEN	Obstétrique	LETRECHER	Marine
27/02/2023	AIX-EN-PROVENCE	Biologie	BAUDESSON de CHANVILLE	Audrey
09/02/2023	TOULOUSE	Biologie	BENARD	Melinda
25/01/2023	FORT-DE-FRANCE	Biologie	FAGOUR	Laurence
25/01/2023	NICE	Autre spécialité	BAILLEUX	Sonanda
11/01/2023	ANGERS	Biologie	BOUTHRY	Elise
11/01/2023	ANGERS	Obstétrique	BIQUARD	Florence
03/01/2023	MARSEILLE 15E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	ROFFI	Mathilde
22/12/2022	PAPEETE	Biologie	LASTERE	Stéphane
22/08/2022	LYON	Biologie	Soares	Anais
24/03/2022	LIMOGES	Pédiatrie	BOSSELUT	Florence
24/03/2022	LIMOGES	Autre spécialité	GREZARD	Veronique
24/03/2022	LIMOGES	Obstétrique	PETITPAS	Charlene
05/05/2021	NIORT	Pédiatrie	CAMARD	Odile
28/04/2021	MULHOUSE	Obstétrique	HOMATTER	Céline
13/04/2021	LYON 7E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	JAMBON	Gaëlle
09/04/2021	CLERMONT-FERRAND	Pédiatrie	Poirier-Cartron	Veronique
25/03/2021	FORT-DE-FRANCE	Obstétrique	GUENERET-BRU	Michele
23/03/2021	BESANCON	Pédiatrie	Schiby	Adèle
16/03/2021	RENNES	Pédiatrie	LEVINE	Emmanuelle
11/03/2021	RENNES	Pédiatrie	NERRE	Anne-Laure
11/03/2021	LIMOGES	Pédiatrie	RAMAHOLIMIHASO	Harisoa
11/03/2021	LYON 4E ARRONDISSEMENT	Biologie	FROBERT	Emilie
10/03/2021	RENNES	Obstétrique	CABARET-DUFOUR	Anne-Sophie
10/03/2021	RENNES	Obstétrique	BODY-BECHOU	Delphine

10/03/2021	RENNES	Pédiatrie	KELLER	Blandine
09/03/2021	MAMOUDZOU	Pédiatrie	KARIMOVA	Saodat
09/03/2021	LIMOGES	Obstétrique	BOUSSOU	Emilie
09/03/2021	STRASBOURG	Pédiatrie	ASTRUC	Dominique
04/03/2021	TALENCE	Obstétrique	PARIS	Anne
03/03/2021	BORDEAUX	Obstétrique	VINCENNE	Marie
03/03/2021	ROUEN	Pédiatrie	PINQUIER	Didier
02/03/2021	PARIS 10E ARRONDISSEMENT	Biologie	Schnepf	Nathalie
23/02/2021	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	CAHIERC	Romain
22/02/2021	STRASBOURG	Obstétrique	WEINGERTNER	Anne Sophie
15/02/2021	SAINT-ETIENNE	Biologie	BOURLET	Thomas
02/02/2021	LYON	Pédiatrie	BUTIN	Marine
29/01/2021	RENNES	Obstétrique	CONTIN	Laurence
25/01/2021	CAEN	Pédiatrie	LECORPS	Elodie
25/01/2021	LYON	Obstétrique	ATTIA	Jocelyne
25/01/2021	LYON	Obstétrique	CAILLOT-VAUDOYER	Sandrine
25/01/2021	LYON	Obstétrique	RASKIN	Fabienne
25/01/2021	LYON	Obstétrique	THONNON	Cyrielle
25/01/2021	LYON	Obstétrique	QUEIROS-DA-SILVA	Catherine
24/02/2020	MEAUX	Biologie	FAIBIS	Frederic
24/02/2020	PARIS 5E ARRONDISSEMENT	Biologie	BACHOUR	Bassel
22/01/2020	PARIS 12E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	KIEFFER	François
16/01/2020	LYON 4E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	LABAUNE	Jean-Marc
16/01/2020	LYON 4E ARRONDISSEMENT	Obstétrique	FICHEZ	Axel
14/01/2020	LYON 1ER ARRONDISSEMENT	Biologie	DELAYER	Delphine
13/01/2020	PARIS 12E ARRONDISSEMENT	Obstétrique	FRANCHINARD	Loriane
13/01/2020	PARIS 12E ARRONDISSEMENT	Obstétrique	DARRAS	Anne-Marie
13/01/2020	TOULOUSE	Pédiatrie	BENARD	Melinda
08/01/2020	LIMOGES	Pédiatrie	Ribot	Elodie
12/12/2019	REIMS	Biologie	ANDREOLETTI	Laurent
10/12/2019	LENS	Obstétrique	DEMERYERE	Mathilde
10/12/2019	BAYONNE	Obstétrique	LEVRIER	Sophie
14/08/2019	MARSEILLE 5E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	GARCIA	Patricia
14/08/2019	BREST	Biologie	PILORGE	Léa
28/06/2019	LYON 4E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	PICAUD	Jean-Charles
24/06/2019	BESANCON	Biologie	MOTTET	Nicolas
24/06/2019	BESANCON	Obstétrique	HENAUT	Sophie
03/06/2019	NICE	Pédiatrie	MAILLOTTE	Anne-Marie

29/04/2019	ROUEN	Biologie	BARON	Adeline
25/03/2019	BORDEAUX	Obstétrique	COICAUD	Marianne
19/03/2019	TOURS	Biologie	MARLET	Julien
18/03/2019	LIMOGES	Pédiatrie	CASTELLA	Clément
15/03/2019	LENS	Obstétrique	VALAT	Anne Sylvie
14/03/2019	VERSAILLES	Biologie	Marque Juillet	Stéphanie
07/03/2019	TALENCE	Pédiatrie	Bertrand	Clotilde
05/03/2019	ORLEANS	Biologie	GUINARD	Jérôme
04/03/2019	DIJON	Obstétrique	ROUSSEAU	Thierry
28/02/2019	NANCY	Obstétrique	PERDRIOLLE-GALET	Estelle
25/02/2019	DIJON	Biologie	AUVRAY	Chrsitelle
25/02/2019	SAINT-PIERRE	Pédiatrie	BOUMAHNI	Brahim
25/02/2019	ORLEANS	Pédiatrie	KIRECHE	Bérengère
12/02/2019	BELFORT	Obstétrique	Lebeaupin	René
18/12/2018	BORDEAUX	Pédiatrie	BRISSAUD	Olivier
15/11/2018	MARSEILLE 15E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	Minodier	Philippe
15/11/2018	SAINT-FLOUR	Obstétrique	VLADIMIROV	Vladimir
07/09/2018	POITIERS	Biologie	Lévêque	Nicolas
16/08/2018	LIMOGES	Autre spécialité	LERAT	Justine
07/08/2018	BESANCON	Obstétrique	MOTTET	Nicolas
23/07/2018	CLAMART	Obstétrique	BENACHI	Alexandra
19/06/2018	FORT-DE-FRANCE	Biologie	NAJIOULLAH	Fatiha
19/06/2018	FORT-DE-FRANCE	Pédiatrie	KETTERER-MARTINON	Sophie
27/04/2018	PARIS 13E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	MILLONES GONZALES	Marco
16/04/2018	TOULOUSE	Biologie	Pasquier	Christophe
06/04/2018	SAINT-OUEN	Biologie	VERDURME	Laura
13/03/2018	NICE	Pédiatrie	Marioli	Sandrine
12/03/2018	MANS	Obstétrique	CHEVE	Marie-Thérèse
02/03/2018	NANCY	Obstétrique	MASIAS	Charlotte
26/02/2018	LYON 4E ARRONDISSEMENT	Obstétrique	HUISSOUD	Cyril
19/02/2018	STRASBOURG	Biologie	SOLIS	Morgane
13/02/2018	RENNES	Biologie	LAGATHU	Gisèle
06/02/2018	NANTES	Obstétrique	LE VAILLANT	Claudine
06/02/2018	CAEN	Biologie	GOUARIN	Stéphanie
05/02/2018	NANTES	Biologie	COSTE-BUREL	Marianne
02/02/2018	LIMOGES	Biologie	Gourinat	Ann-Claire
30/01/2018	BORDEAUX	Biologie	LAFON	Marie-Edith
29/01/2018	PARIS 18E ARRONDISSEMENT	Biologie	Houhou	Nadira
29/01/2018	BESANCON	Biologie	Lepiller	Quentin
29/01/2018	NANCY	Biologie	VENARD	Véronique
18/01/2018	LILLE	Biologie	LAZREK	Mouna
12/10/2017	MONTPELLIER	Pédiatrie	VIGUE	Marie Gabrielle

12/10/2017	LATRONCHE	Pédiatrie	Epiard	Chloé
05/10/2017	LATRONCHE	Autre spécialité	Troussier	Joelle
03/10/2017	LATRONCHE	Obstétrique	Equy	Véronique
03/10/2017	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	GALLOT	Denis
02/10/2017	TOURS	Obstétrique	Perrotin	Franck
21/09/2017	NICE	Biologie	CANNAVO	Isabelle
18/08/2017	AUTRES	Biologie	Vestergaard	Hanne Thang
17/08/2017	POITIERS	Biologie	Beby-Defaux	Agnès
10/07/2017	COLOMBES	Obstétrique	PICONE	Olivier
10/07/2017	VILLEJUIF	Biologie	VAULOUP-FELLOUS	Christelle
16/06/2017	PARIS 15E ARRONDISSEMENT	Biologie	Leruez	Marianne
09/06/2017	CLERMONT-FERRAND	Biologie	Regagnon	Christel
09/06/2017	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	LAURICHESSE	Hélène
09/06/2017	NANTES	Biologie	Banaszkiewicz	Nathalie
12/05/2017	NANTES	Biologie	BRESSOLLETTE	Céline
12/05/2017	LIMOGES	Obstétrique	COSTE-MAZEAU	Perrine
30/03/2017	RENNES	Obstétrique	Le Bouar	Gwenaelle
27/03/2017	TOURS	Biologie	Gaudy-Graffin	Catherine
27/03/2017	AMIENS	Biologie	Ségard	Christine
27/03/2017	LILLE	Biologie	Dewilde	Anny
23/03/2017	POITIERS	Obstétrique	VEQUEAU-GOUA	Valérie
23/03/2017	CAEN	Obstétrique	BENOIST	Guillaume
23/03/2017	NIMES	Biologie	Carles	Marie-Josée
23/03/2017	PARIS 13E ARRONDISSEMENT	Biologie	BOUTOLLEAU	David
23/03/2017	BREST	Obstétrique	Saliou	Anne-Hélène
21/03/2017	LYON 7E ARRONDISSEMENT	Biologie	Jacomo	Véronique
09/03/2017	GRENOBLE	Biologie	Lupo	Julien
17/02/2017	AVIGNON	Biologie	Pesenti	Delphine
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Oliéric	Marie-France
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Welter	Eric
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Moza	Anca
13/02/2017	NICE	Obstétrique	Trastour	Cynthia
13/02/2017	MONTPELLIER	Biologie	Foulongne	Vincent
13/02/2017	SAINT-ETIENNE	Biologie	Pillet	Sylvie
13/02/2017	FORT-DE-FRANCE	Obstétrique	Jolivet	Eugénie
13/02/2017	NIMES	Obstétrique	Mousty	Eve
10/02/2017	PARIS 12E ARRONDISSEMENT	Pédiatrie	Fétiveau	Benoît
19/12/2016	BORDEAUX	Biologie	Garrigue	Isabelle
09/12/2016	MARSEILLE	Biologie	Zandotti	Christine
22/11/2016	PARIS 19E ARRONDISSEMENT	Autre spécialité	Teissier	Natacha



Déclaration Publique d'Intérêts

Le 05/04/2024 18:35:01

Je soussigné(e) **Alain Sophie** né(e) **ALAIN SOPHIE**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé : 10000461912

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Adresse : 2 rue R Marcland 87000 Limoges 87000 LIMOGES FRANCE

Fonction : PU-PH

Période : 01/2007 à aujourd'hui

Spécialité : Microbiologie

Lieu d'exercice : Faculté de médecine de Limoges et CHU de Limoges 87000 LIMOGES FRANCE

CHU DE LIMOGES

Adresse : 2 ave ML King 87000 LIMOGES FRANCE

Fonction : PU-PH (service de Bactériologie Virologie Hygiène)

Période : 01/03/2000 à aujourd'hui

Spécialité : Virologie

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

Fonction occupée : Conseil d'administration

Rémunération : aucune

Période : 01/2016 à aujourd'hui

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

HAS COMMISSION DE TRANSPARENCE

Fonction occupée : expert extérieur

Sujet : PREVYTMIS en transplantation rénale

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 200 euros

Période : 14/02/2024 - 14/02/2024

HAS

Fonction occupée : expert au sein de la commission

Sujet : Recommandations vaccinales contre le zona , place du vaccin SHINGRIX

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 200 euros

Période : 01/2024 - 29/02/2024

ANSM

Fonction occupée : expert extérieur

Sujet : Avis sur le besoin de conserver la disponibilité du Cidofovir pour la prise en charge des infection à CMV

Rémunération : aucune

Période : 11/09/2023 - 11/09/2023

HAS COMMISSION DE LA TRANSPARENCE

Fonction occupée : Avis d'Expert

Sujet : AMM LIVTENCITY Maribavir

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 300 euros

Période : 15/02/2023 - 15/02/2023

HCSP

Fonction occupée : expert

Sujet : sur le dépistage systématique du cytomégavirus chez les donneurs de gamètes et d'embryons

Rémunération : aucune

Période : 04/2022 - 05/2023

HAS COMMISSION DE LA TRANSPARENCE

Fonction occupée : Avis d'expert consultant

Sujet : Réévaluation et nouvelles indications du foscavir

Rémunération : aucune

Période : 06/11/2019 - 06/11/2019

HCSP

Fonction occupée : Participation à la commission en tant qu'expert

Sujet : commission chargée de rédiger le rapport et l'avis sur "la prévention de l'infection à cytomégavirus chez la femme enceinte et chez le nouveau-né " publié en décembre 2018

Rémunération : aucune

Période : 12/2016 - 12/2018

SFM

Fonction occupée : avis d'expert au sein du groupe de travail

Sujet : participation au groupe de travail de la SFM révision de la NABM et des RIHN

Rémunération : aucune

Période : 01/2014 à aujourd'hui

QCMD (CONTROLE DE QUALITÉ EUROPÉEN)

Fonction occupée : expert

Sujet : conseil pour les panels de contrôle de qualité CMV charge virale et résistance

Rémunération : aucune

Période : 01/2013 à aujourd'hui

AORIC/RICAI ASSOCIATION À BUT NON LUCRATIF

Fonction occupée : participation au comité de programme du congrès

Sujet : Organisation du congrès annuel de la RICAI

Rémunération : aucune

Période : 12/2011 - 31/12/2023

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

AICURIS

Sujet : PRIO-H1 traitement par pritelivir des infections à HSV et VZV résistantes ou non aux antiviraux etude de phase III internationale

Type d'étude : Etude multicentrique
Votre rôle : Co-investigateur
Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)
Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas
Période : 09/2022 à aujourd'hui

TAKEDA

Sujet : Aurora
Type d'étude : Etude multicentrique
Votre rôle : Investigateur
Rémunération : aucune
Période : 12/2018 - 12/2023

TAKEDA

Sujet : Solstice , maribavir rescue therapy
Type d'étude : Etude multicentrique
Votre rôle : Investigateur coordonnateur
Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)
Montant perçu (Organisme) : Total 3 000 euros
Période : 07/2017 - 12/2020

2.3.2 Autres travaux scientifiques

TAKEDA

Sujet : participation à l'analyse des données du PUT du maribavir en traitement des infections réfractaires ou résistantes en tant qu'expert CMV
Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)
Montant perçu (Organisme) : Total 3 000 euros
Période : 02/2024 à aujourd'hui

GSK

Sujet : Réunion scientifique : vaccinations chez les patients immunodéprimés suite aux recommandations du HCSP
Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)
Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas
Période : 29/08/2023 - 29/08/2023

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4.2 Intervention(s)

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : réunion d'experts scientifiques , MSD La Défense
Sujet de l'intervention, nom du produit visé : réunion Letermovir en prophylaxie retour d'expérience , aves d'expert.
Prise en charge des frais : Oui
Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)
Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas
Période : 03/2024 - 03/2024

TAKEDA

Lieu et intitulé de la réunion : Brest

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Symposium à la Société Française de Transplantation conférence : actualités sur les résistances du CMV aux antiviraux

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 05/12/2023 - 06/12/2023

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Congrès de la SFGMTC, Lille, France

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : prophylaxie par letermovir jusqu'à quand

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 12/2023 - 12/2023

BIOTEST

Lieu et intitulé de la réunion : Barcelone Symposium CMV

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Cas cliniques sur le management des patients réfractaires et résistants en greffe de cellules souches.

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (Université de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 200 euros

Période : 11/05/2023 - 11/05/2023

BIOTEST

Lieu et intitulé de la réunion : Société Francophone de Transplantation

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Les cas complexes de CMV ayant reçu des HIVIG à travers le prisme des patients greffés rénaux

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 15/12/2022 - 15/12/2022

TAKEDA

Lieu et intitulé de la réunion : Société Francaise de Transplantation Congrès annuel

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Les nouvelles stratégies thérapeutiques

Aucun produit visé

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 300 euros

Période : 14/12/2022 - 14/12/2022

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : SFGMTC 2022 congrès national

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Virémie CMV conduite à tenir , pas de produit visé.

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 300 euros

Période : 11/11/2022 - 11/11/2022

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : La défense, Paris

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Réunion du Comité scientifique CMV-Letervomir présentation de l'expérience de la

cohorte Navire

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 200 euros

Période : 15/04/2022 - 15/04/2022

BIOTEST

Lieu et intitulé de la réunion : Symposium à la Société Française de Transplantation , Genève

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Quand le CMV fait de la résistance

Aucun

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (Université de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 500 euros

Période : 09/12/2021 - 09/12/2021

BIOTEST

Lieu et intitulé de la réunion : Biotest CMv international Symposium, Amsterdam

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : When CMV is playing unfair, how to breakthrough CMV resistance ?
Aucun produit

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (Université de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 2 200 euros

Période : 10/09/2021 - 11/09/2021

TAKEDA

Lieu et intitulé de la réunion : visioconférence

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : participation à une table ronde sur l'utilisation du maribavir chez les patients réfractaires ou résistants

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : À l'organisme (Université de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 584 euros

Période : 22/06/2021 - 22/06/2021

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Visio Conférence

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Interrelations CMV et VIH: quels impacts et quel apport des nouvelles thérapeutiques?

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 125 euros

Période : 26/01/2021 - 26/01/2021

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : participation à un webinar de la SFGMTC en visio conférence

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : prise en charge des infections à SARS CoV2 et CMV et notamment des blips de charge virale CMV à travers des cas cliniques

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 250 euros

Période : 03/11/2020 - 03/11/2020

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Paris conférence Petit déjeuner de Presse

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Nouveau paradigme dans la prise en charge du CMV chez les patients allogreffés de cellules souches

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Total 1 000 euros

Période : 01/09/2020 - 30/09/2020

IQONE

Lieu et intitulé de la réunion : Visio conférence

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Formation/Conférence : La prise en charge du CMV en transplantation d'organes
5heures de travail

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 22/01/2020 - 22/01/2020

IQONE

Lieu et intitulé de la réunion : Nouveautés dans la prise en charge du CMV en transplantation osseuse

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : participation à une réunion d'experts

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 28/11/2019 - 28/11/2019

MERCK

Lieu et intitulé de la réunion : Milan

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Webcast de formation sur le Ietermovir, partage d'expérience entre cliniciens et virologues européens et US

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 01/10/2019 - 01/10/2019

BIOTEST

Lieu et intitulé de la réunion : orateur symposium au 13e congrès international de transplantation pulmonaire

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : actualités sur la prise en charge du CMV après al conférence de consensus de 2017

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (Université de Limoges (Avrul))

Montant perçu (Organisme) : Total 1 000 euros

Période : 13/09/2019 - 13/09/2019

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Innovations CMV intervention orale

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : anciens et nouveaux antiviraux

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 15/05/2019 - 16/05/2019

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Paris

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Intervention orale aux Journées d'infectiologie J2I : pas de produit visé , "prise en charge des infections à CMV en 2018"

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 26/11/2018 - 26/11/2018

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : SFGMTC

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Place des nouveaux antiviraux, maribavir et letermovir,

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : À l'organisme (CHU de Limoges)

Montant perçu (Organisme) : Je ne sais pas

Période : 22/11/2018 - 22/11/2018

BIOMÉRIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Table ronde Scientifique

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Torqueteno virus et infections à CMV

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 10/10/2018 - 10/10/2018

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

ETUDE CIRCLE : ANALYSE DE LA RÉPONSE IMMUNE CHEZ LES PATIENTS RECEVEURS DE GREFFE DE MOELLE, AVEC ET SANS LETERMOVIR. PI S ALAIN, MULTICENTRIQUE, NANCY/LIMOGES, COFINANCEMENT CHU DE LIMOGES (PROMOTEUR DE L'ETUDE), ET MERCK (CO-FINANCEMENT VERSÉ AU CHU DE LIMOGES DANS LE CADRE D'UNE INVESTIGATOR INITIATED STUDY).

Organisme financeur : Merck: 75000 euros

Période : 09/2022 à aujourd'hui

BÉNÉFICIAIRE : CHU DE LIMOGES, COFINANCEMENT COHORTE NAVIRE (PARTENARIAT AVEC LA SFGMTC) POUR LA SURVEILLANCE DES NOUVEAUX ANTI-CMV APRÈS GREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOIÉTIQUES.

Organisme financeur : Co-financement MSD 200 000 euros, Biostest 24 500 euros et académiques/CHU , montant total du budget 407603 euros

Période : 07/2020 à aujourd'hui

UNIVERSITÉ DE LIMOGES SOUTIEN À LA RECHERCHE POST -DOCTORALE (POST DOCTORANT PARTAGÉ) POUR L'ÉTUDE DE LA RÉPLICATION DU CMV EN MODÈLE PLACENTAIRE ET LE DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE ORGANOPLATE DE PLACENTA POUR L'ÉTUDE D'ANTICORPS ANTI CMV

Organisme financeur : Sanofi-Pasteur cofinancement à 50% des activités post doctorales et du post doctorat.

Période : 01/03/2020 - 30/06/2022

CHU DE LIMOGES, ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DU LETERMOVIR IN VITRO ET EN MODÈLE D'EXPLANTS PLACENTAIRE

Organisme financeur : Co-financement Merck 40 000 euros (Investigator Initiated study), et budget d'équipe de recherche Inserm U1092 30 000 euros

Période : 09/2017 - 09/2019

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de

santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

GROUPE DE REFLEXION ORGANISÉ PAR GSK SUR LA STRATÉGIE VACCINALE CHEZ LES PATIENTS IMMUNODÉPRIMÉS.

Commentaire : pas de rémunération personnelle

Montant perçu : Total 1 080 euros

Période : 31/08/2023 - 31/08/2023

INVITATION À UN CONGRÈS SUR L'INFECTION CONGÉNITALE À CMV À FLORENCE, EN 2019

Commentaire : laboratoire Biostest

prise en charge des frais d'inscription et de transport.

Période : 20/02/2019 - 23/02/2019

Déclaration Publique d'Intérêts

Le 05/04/2024 18:25:17

Je soussigné(e) **HANTZ Sébastien** né(e) **HANTZ Sébastien**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé :

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

UNIVERSITÉ ET CHU LIMOGES

Adresse : 2 avenue Martin Luther King 87042 LIMOGES FRANCE

Fonction : PU-PH

Période : 01/11/2005 à aujourd'hui

Spécialité : Virologie

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

MSD VACCINS

Fonction occupée : Expertise

Sujet : Etude IMPACT HPV : étude demandée par la HAS sur l'impact de la vaccination HPV sur la réduction des lésions de haut grade du col de l'utérus

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 2 800 euros

Période : 01/04/2020 à aujourd'hui

MSD VACCIN

Fonction occupée : Expertise

Sujet : Etude HPV Est

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 700 euros

Période : 05/12/2017 - 05/12/2017

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

CHU SAINT-ETIENNE

Sujet : CYTOVEDO

Type d'étude : Etude monocentrique

Votre rôle : Autre (Président conseil de surveillance)

Rémunération : aucune

Période : 10/10/2019 à aujourd'hui

2.3.2 Autres travaux scientifiques

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

ELSEVIER

Sujet de l'article : EMC Biologie médicale - 64(IV-2022) - 90-55-0070-A "Papillomavirus humains"

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 522 euros

Période : 05/09/2022 - 05/09/2022

PERFORMANCES MÉDICALES

Sujet de l'article : Les papillomavirus humains

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 720 euros

Période : 28/06/2021 - 28/06/2021

ELSEVIER

Sujet de l'article : Editorial

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 188 euros

Période : 12/04/2021 - 12/04/2021

ELSEVIER

Sujet de l'article : Dossier IST

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 618 euros

Période : 26/02/2021 - 26/02/2021

ELSEVIER

Sujet de l'article : Editorial COVID19

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 184 euros

Période : 27/11/2020 - 27/11/2020

2.4.2 Intervention(s)

MSD VACCINS

Lieu et intitulé de la réunion : Brive. "L'infectiologie dans tous ses états"

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Actualités HPV : vers l'élimination des cancers HPV-induits ?

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 875 euros

Période : 28/04/2023 - 28/04/2023

ABBOTT DIAGNOSTICS

Lieu et intitulé de la réunion : ECCI (visio)

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Diagnostic tools for congenital CMV infection during pregnancy: systematic or targeted screening

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 1 500 euros

Période : 20/10/2022 - 20/10/2022

ABBOTT DIAGNOSTICS

Lieu et intitulé de la réunion : Webinar Labroots

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Shining a spotlight on cytomegalovirus diagnostics - focus on improving outcomes for mothers and babies. Strategy of diagnosis and guidelines

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 1 500 euros

Période : 16/06/2022 - 16/06/2022

GILEAD

Lieu et intitulé de la réunion : 9èmes ETATS REGIONAUX VIH Sud-Ouest

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Prise en charge de l'HPV en 2020 : Point de vue biologique

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 728 euros

Période : 28/05/2021 - 28/05/2021

MSD VACCIN

Lieu et intitulé de la réunion : eRP Régionale HPV - "Regards croisés HPV : Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur le HPV

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Point de vue du virologue

Prise en charge des frais : Non

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 583 euros

Période : 02/02/2021 - 02/02/2021

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

Déclaration Publique d'Intérêts

Le 25/03/2024 18:05:59

Je soussigné(e) **LERUEZ-VILLE MARIANNE**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé :

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

ASSISTANCE PUBLIQUE DE PARIS- HÔPITAL NECKER-ENFANTS-MALADES

Adresse : 149 rue de Sèvres 75015 paris 75015 PARIS 15 FRANCE

Fonction : Praticien Hospitalier- Médecin Biogiste
Cheffe de Service Laboratoire de Microbiologie Clinique

Période : 02/05/1999 à aujourd'hui

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

ALTONA

Fonction occupée : Conference
Sujet : Infection congénitale à CMV
Rémunération : aucune
Période : 20/09/2023 - 21/09/2023

ROCHE DIAGNOSTIC

Fonction occupée : Webinar
Sujet : CMV congenital infection : prenatal treatment
Rémunération : À l'organisme (ANECMAT. Association Necker Maternité)
Montant perçu (Organisme) : Total 1 500 euros
Période : 13/04/2023 - 13/04/2023

DIASORIN

Fonction occupée : Conférence
Sujet : Diagnostic néonatal de l'infection à CMV
Rémunération : À l'organisme (Association ANECMAT
Hôpital Necker_Enfants-malades)
Montant perçu (Organisme) : Total 2 000 euros
Période : 21/10/2021 - 22/10/2021

DIASORIN

Fonction occupée : Webinar
Sujet : Infection congénitale à CMV
Rémunération : À l'organisme (Association Necker maternité)
Montant perçu (Organisme) : Total 2 500 euros
Période : 29/09/2020 - 29/09/2020

BIOMÉRIEUX

Fonction occupée : Validation extraction Emag sur liquide amniotique et échantillon salivaires

Sujet : validation trousse extraction

Rémunération : À l'organisme (Association Maternité Necker ANECMAT)

Montant perçu (Organisme) : Total 16 000 euros

Période : 01/05/2018 - 04/03/2019

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

Fonction occupée : Expert au sein de la commission d'AMP vigilance

Sujet : AMP vigilance

Rémunération : aucune

Période : 06/2014 à aujourd'hui

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

ASSISTANCE PUBLIQUE DE PARIS

Organisme financeur : Fondation Carasso

Sujet : Marqueurs maternels viro-immunologiques d'infections non-primaires à cytomégalovirus (CMV) chez les femmes séropositives en début de grossesse (CYME-IMMUNE)

Type d'étude : Etude monocentrique

Votre rôle : Coordonnateur

Rémunération : À l'organisme (Hôpital Necker-Enfants-malades)

Montant perçu (Organisme) : Total 150 000 euros

Période : 01/10/2022 à aujourd'hui

DIRECTION DE LA RECHERCHE CLINIQUE

Organisme financeur : Minitère de la santé

Sujet : Prenatal treatment of congenital cytomegalovirus infection with letermovir randomized against valaciclovir

Type d'étude : Etude multicentrique

Votre rôle : Co-investigateur

Rémunération : À l'organisme (Hôpital necker-Enfants-malades)

Montant perçu (Organisme) : Total 10 000 euros

Période : 01/07/2021 à aujourd'hui

DIRECTION DE LA RECHERCHE CLINIQUE

Organisme financeur : Direction de la recherche clinique

Sujet : Infection congénitale à CMV - Valeur pronostique des marqueurs néonataux pour la survenue à un an des séquelles liée au CMV. - PHRC

Type d'étude : Etude multicentrique

Votre rôle : Investigateur coordinateur

Rémunération : À l'organisme (Hôpital necker Enfants malades)

Montant perçu (Organisme) : Total 505 000 euros

Période : 01/2013 - 01/01/2023

DIRECTION DE LA RECHERCHE CLINIQUE

Organisme financeur : Direction de la recherche clinique

Sujet : Infection congénitale à CMV - Faisabilité de la réalisation dans le premier mois de vie du diagnostic d'une infection congénitale à CMV et de la confirmation d'un déficit auditif - Contrat de recherche clinique

Type d'étude : Etude multicentrique

Votre rôle : Investigateur coordinateur

Rémunération : À l'organisme (Hôpital necker Enfants Malades)

Montant perçu (Organisme) : Total 100 000 euros

Période : 01/2013 - 01/06/2023

2.3.2 Autres travaux scientifiques

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4.2 Intervention(s)

NIH NATIONAL INSTITUT OF HEALTH

Lieu et intitulé de la réunion : Washington DC. CMV vaccine development: How close are We?

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : CMV Infections in Populations of Seronegative and Seropositive Women European perspective

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 27/09/2023 - 28/09/2023

ABBOTT

Lieu et intitulé de la réunion : Paris. Réunion utilisateur Alinity m

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Evaluation PCR CMV dans les échantillons de salive sur l'Alinity M

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 14/09/2023 - 14/09/2023

BAR ILAN UNIVERSITY

Lieu et intitulé de la réunion : Tel Aviv . Infections diseases Symposium

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Intrauterine infections/Pregnancy: early diagnosis and treatment : CMV

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 05/09/2023 - 06/09/2023

BIOMERIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Journées Scientifiques

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Film Array. PCR TTV Argène

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 23/11/2022 - 25/11/2022

ROCHE DIAGNOSTICS FRANCE

Lieu et intitulé de la réunion : Journée Roche Expert days: "Suivi virologique du patient transplanté"

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : virologie patient transplanté

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 25/10/2019 - 25/10/2019

BIOMÉRIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Journées scientifiques
Sujet de l'intervention, nom du produit visé : FilmArray
Prise en charge des frais : Oui
Rémunération : aucune
Période : 16/10/2019 - 17/10/2019

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Journée d'échanges Innovation CMV: comment améliorer la prophylaxie des patients allogreffés de cellules souches.
PARIS

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : letermovir
Prise en charge des frais : Oui
Rémunération : aucune
Période : 16/05/2019 - 16/05/2019

MSD

Lieu et intitulé de la réunion : Congenital CMV 2019. from pregnancy to Infancy: let's face it
Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Antiviral treatment
Prise en charge des frais : Oui
Rémunération : aucune
Période : 21/02/2019 - 22/02/2019

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

CONJOINT(E)

Organisme : SONIO

Salariat – Fonction (structure) :

Actionnariat – Montant : Total 1 euros

Période : N/A

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

Déclaration Publique d'Intérêts

Le 25/03/2024 16:54:26

Je soussigné(e) **BOUTOLLEAU DAVID**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé : 10000515261

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

HÔPITAUX UNIVERSITAIRES PITIÉ-SALPÊTRIÈRE (AP-HP) ET SORBONNE UNIVERSITÉ

Adresse : 83 boulevard de l'hôpital 75013 PARIS 13 FRANCE

Fonction : Maître de Conférences Universitaire - Praticien Hospitalier (MCU-PH)

Période : 09/2007 à aujourd'hui

Spécialité : Virologie médicale

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

MSD VACCINS

Fonction occupée : Programme européen VZVIP

Sujet : Identification des souches de VZV (sauvages/vaccinales) responsables d'éruption vésiculeuse chez des individus ayant reçu le vaccin VARIVAX®, ZOSTAVAX® ou PROQUAD®

Rémunération : À l'organisme (Hôpital Pitié-Salpêtrière)

Montant perçu (Organisme) : Total 292 euros

Période : 12/2020 - 12/2021

MSD VACCINS

Fonction occupée : Programme européen VZVIP

Sujet : Identification des souches de VZV (sauvages/vaccinales) responsables d'éruption vésiculeuse chez des individus ayant reçu le vaccin VARIVAX®, ZOSTAVAX® ou PROQUAD®.

Rémunération : À l'organisme (Hôpital Pitié-Salpêtrière)

Montant perçu (Organisme) : Total 3 882 euros

Période : 06/2019 - 11/2020

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.3.2 Autres travaux scientifiques

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES (RFL)

Sujet de l'article : Herpès génital

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 165 euros

Période : 10/2020 - 12/2020

2.4.2 Intervention(s)

QIAGEN

Lieu et intitulé de la réunion : Diagnostic MDX infectieux

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Participation au congrès

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 01/2024 - 01/2024

BIOMERIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Table ronde scientifique

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Participation au congrès

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 11/2023 - 11/2023

BIOMERIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Journées approche syndromique BioFire

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Intervention orale : Etude nationale sur les infections neuroméningées par HSV et VZV ; BIOFIRE ME panel : quel positionnement? Quelles bonnes pratiques?

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 09/2023 - 09/2023

BIOMERIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Annecy - 3rd BIOFIRE syndromic approach meeting

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : FilmArray

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 11/2022 - 11/2022

BIOMERIEUX

Lieu et intitulé de la réunion : Lyon - Table ronde annuelle

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : FilmArray et TTV

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : aucune

Période : 10/2022 - 10/2022

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

INTERVENTION ORALE DANS LE CADRE D'UN WEBINAIRE INTITULÉ "SUIVI VIROLOGIQUE DU PATIENT TRANSPLANTÉ" ORGANISÉ POUR LA FORMATION DES ÉQUIPES DE ROCHE DIAGNOSTICS FRANCE

Commentaire : Ce webinaire a été organisé par la Société Française de Microbiologie (SFM)

Montant perçu : Total 800 euros

Période : 06/2021 - 07/2021